



## MECHANIZMY POWSTAWANIA CHOROBY

## Śmierć komórki

Richard S. Hotchkiss, MD, Andreas Strasser, PhD, Jonathan E. McDunn, PhD,  
Paul E. Swanson, MD

N Engl J Med 2009, 361: 1570-1583.

**Dr Hotchkiss,**  
Departments of Anesthesiology,  
Medicine and Surgery,  
Washington University School  
of Medicine, St. Louis,  
Stany Zjednoczone.

**Dr Strasser,**  
Department of Molecular Genetics  
of Cancer,  
Walter and Eliza Hall Institute  
of Medical Research, Melbourne,  
Australia.

**Dr McDunn,**  
Department of Anesthesiology,  
Washington University School  
of Medicine, St. Louis,  
Stany Zjednoczone.

**Dr Swanson,**  
Department of Pathology,  
University of Washington School  
of Medicine, Seattle,  
Stany Zjednoczone.

**Adres do korespondencji:**  
Dr Richard S. Hotchkiss,  
Department of Anesthesiology,  
Washington University School  
of Medicine, 660 S. Euclid,  
St. Louis, MO 63110, USA;  
e-mail: hotchk@wustl.edu.

**W**e wszystkich organizmach komórkowych musi następować apoptoza, czyli kontrolowana śmierć komórek. Gdyby nie było apoptozy, do 80 r.ż. w organizmie człowieka prawdopodobnie doszłoby do nagromadzenia się 2 ton szpiku kostnego i węzłów chłonnych oraz 16 km jelita cienkiego.<sup>1</sup> Badania nad apoptozą ujawniły występowanie złożonych związków między różnymi programami śmierci komórkowej, które mogą wpływać na leczenie całej gamy chorób.<sup>2-10</sup>

## KLASYFIKACJA ŚMIERCI KOMÓRKOWEJ

Według najczęściej stosowanej klasyfikacji wyróżnia się dwa typy śmierci komórek ssaków: apoptozę i nekrozę.<sup>3,4,11</sup> Niektórzy proponują, by za trzeci typ uznać autofagię, czyli proces, w trakcie którego komórki, trawiąc własne organelle i makrocząsteczki, wytwarzają energię i produkty przemiany materii.<sup>12-15</sup> Autofagia umożliwia przeżycie komórkom głodującym lub pozbawionym czynników wzrostu.<sup>12-15</sup> Komórki przez dłuższy czas pozbawione substancji odżywczych ostatecznie trawią wszystkie dostępne substraty i umierają (tzw. śmierć komórkowa związana z autofagią). Różnice między apoptozą, nekrozą i autofagią polegają na odmiennym przebiegu oraz różnych cechach morfologicznych, biochemicznych i cząsteczkowych towarzyszących każdemu z tych typów śmierci komórki (ryc. 1).<sup>3,4,11</sup>

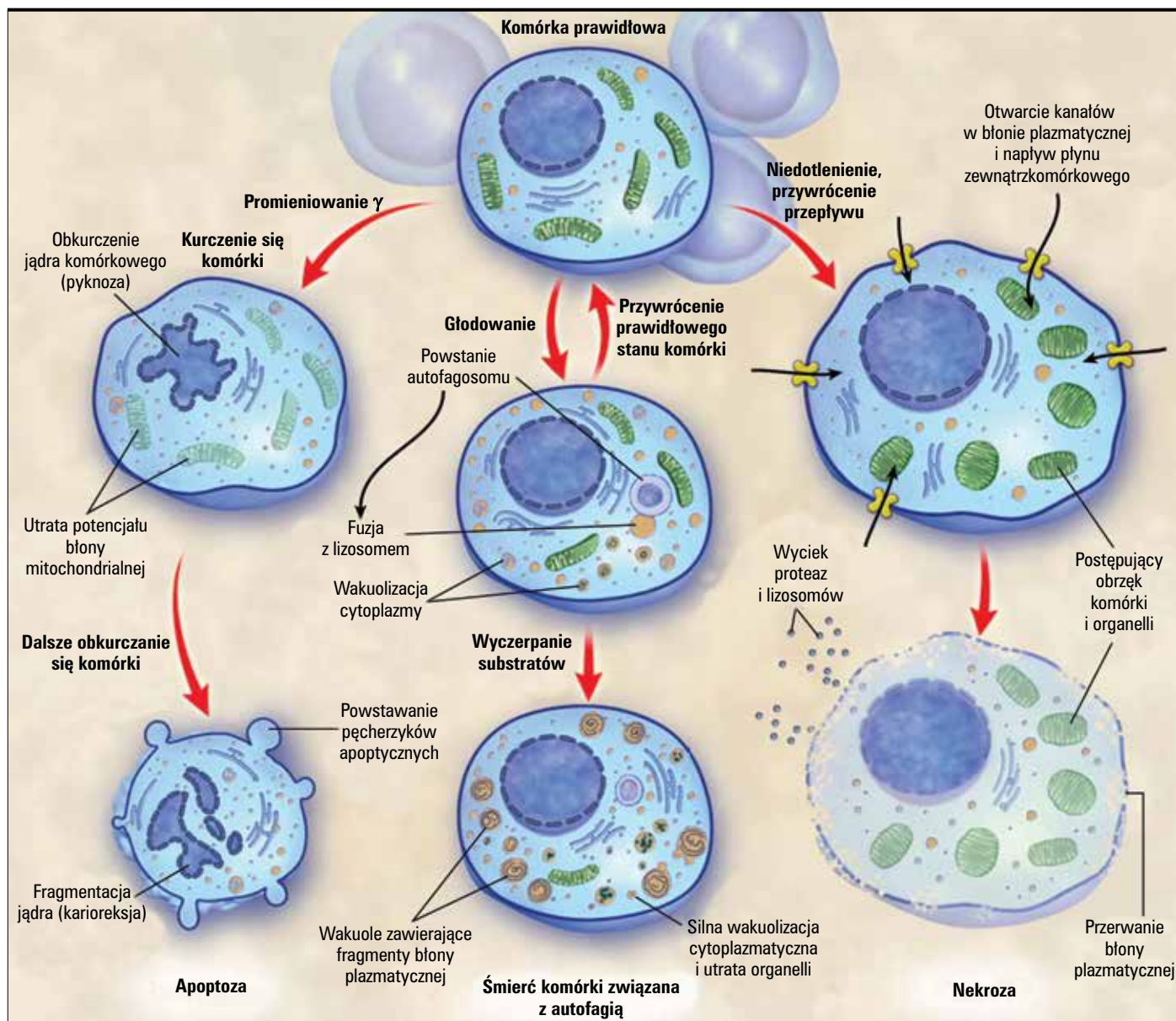
Programowana śmierć komórkowa jest niezwykle ważnym procesem. Przyjmuje się, że podlega ona kontroli genetycznej. Dwoma głównymi typami programowanej śmierci komórki są apoptoza i śmierć związana z autofagią.<sup>3,12</sup> Odkrycie, że śmierć komórkowa jest wynikiem procesów kontrolowanych genetycznie, umożliwiło postęp w poznaniu mechanizmów leżących u podstaw wielu chorób. Ta wiedza pozwoliła z kolei na opracowanie leków zapoczątkowujących lub hamujących programowaną śmierć komórki.<sup>6-8,16</sup> Co więcej, pojawiły się dowody, że nekroza, tradycyjnie uznawana za rodzaj przypadkowej śmierci komórki, w pewnych okolicznościach bywa zapoczątkowywana lub modulowana przez programowane mechanizmy kontrolne.<sup>17-21</sup>

## APOPTOZA

## Definicja

Określenie apoptoza wywodzi się z greckiego słowa oznaczającego liście opadające z drzewa.<sup>22-24</sup> W przeciwieństwie do charakteryzującego nekrozę pęcznienia komórek i organeli główną morfologiczną cechą apoptozy jest kurczenie się komórki i jej jądra (ryc. 2 i 3,

RYCINA 1



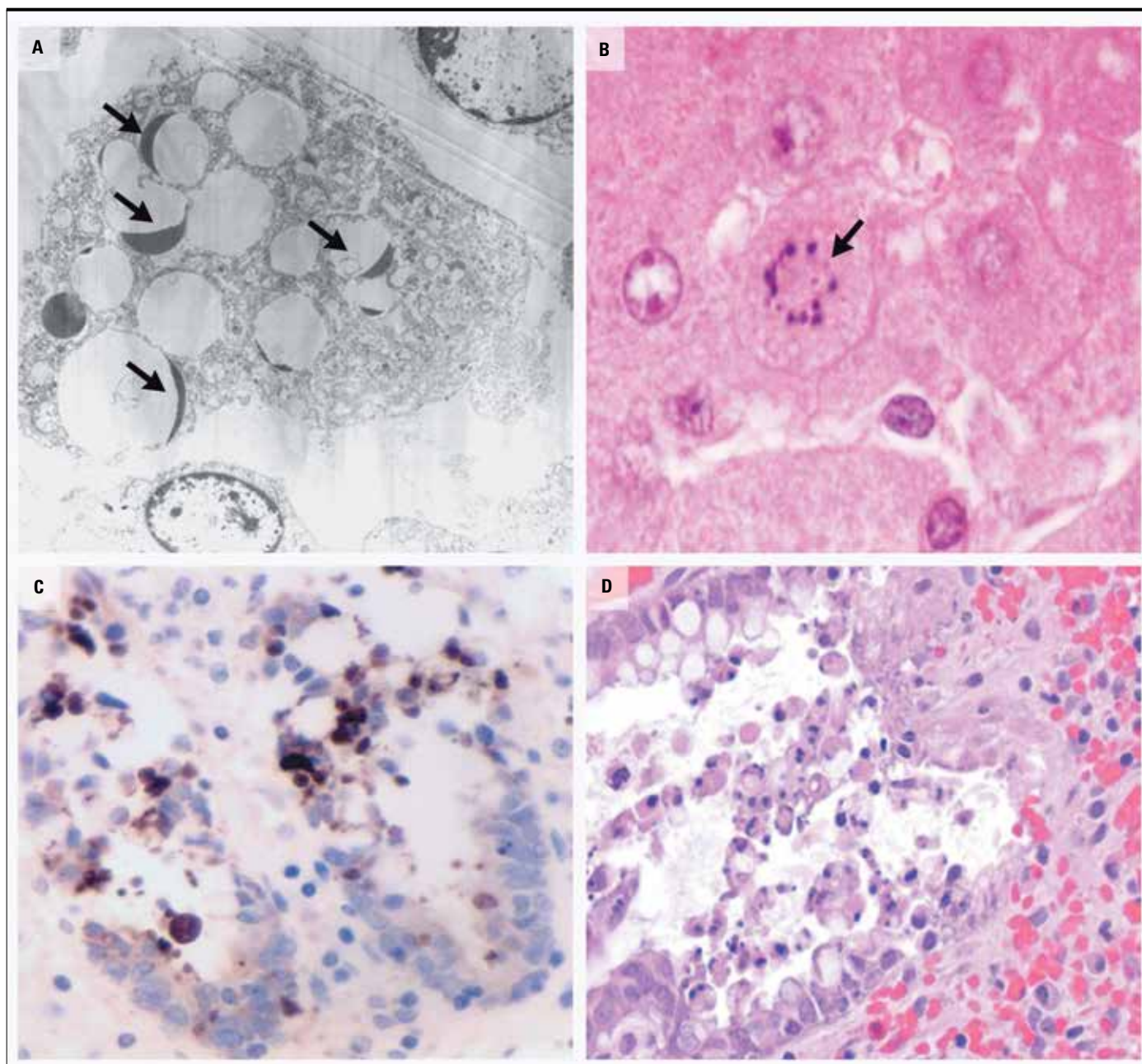
### Trzy szlaki śmierci komórkowej.

W zależności od rodzaju uszkodzenia i typu komórek może dominować jeden spośród trzech głównych szlaków śmierci komórkowej – apoptozy, autofagii i martwicy. Nie przedstawiono wzajemnych oddziaływań występujących między różnymi typami śmierci komórek, chociaż wiadomo, że takie współzależności istnieją na wielu poziomach.

oraz ryciny 1-4 w załączniku dostępnym wraz z pełną wersją artykułu na stronie NEJM.org). Odróżnienie nekrozy od apoptozy opiera się częściowo na różnicy w zachowaniu się błony plazmatycznej w każdym z tych procesów. W przebiegu nekrozy wczesna utrata integralności błony komórkowej prowadzi do zwiększenia stężeń jonów oraz napływu płynu, co powoduje pęcznienie komórki i jej organelli.<sup>17-20,25,26</sup> W procesie apoptozy integralność

błony plazmatycznej pozostaje nienaruszona aż do jego końcowej fazy. Kluczową cechą apoptozy jest trawienie białek cytoszkieletu przez proteazy swoiste dla asparginianu, co prowadzi do uszkodzenia macierzy wewnątrzkomórkowej.<sup>2,5,8,23</sup> Cechami charakterystycznymi są również kondensacja chromatyny, fragmentacja jądra komórkowego oraz tworzenie pęcherzyków z błony plazmatycznej, tzw. pęcherzyków apoptycznych.

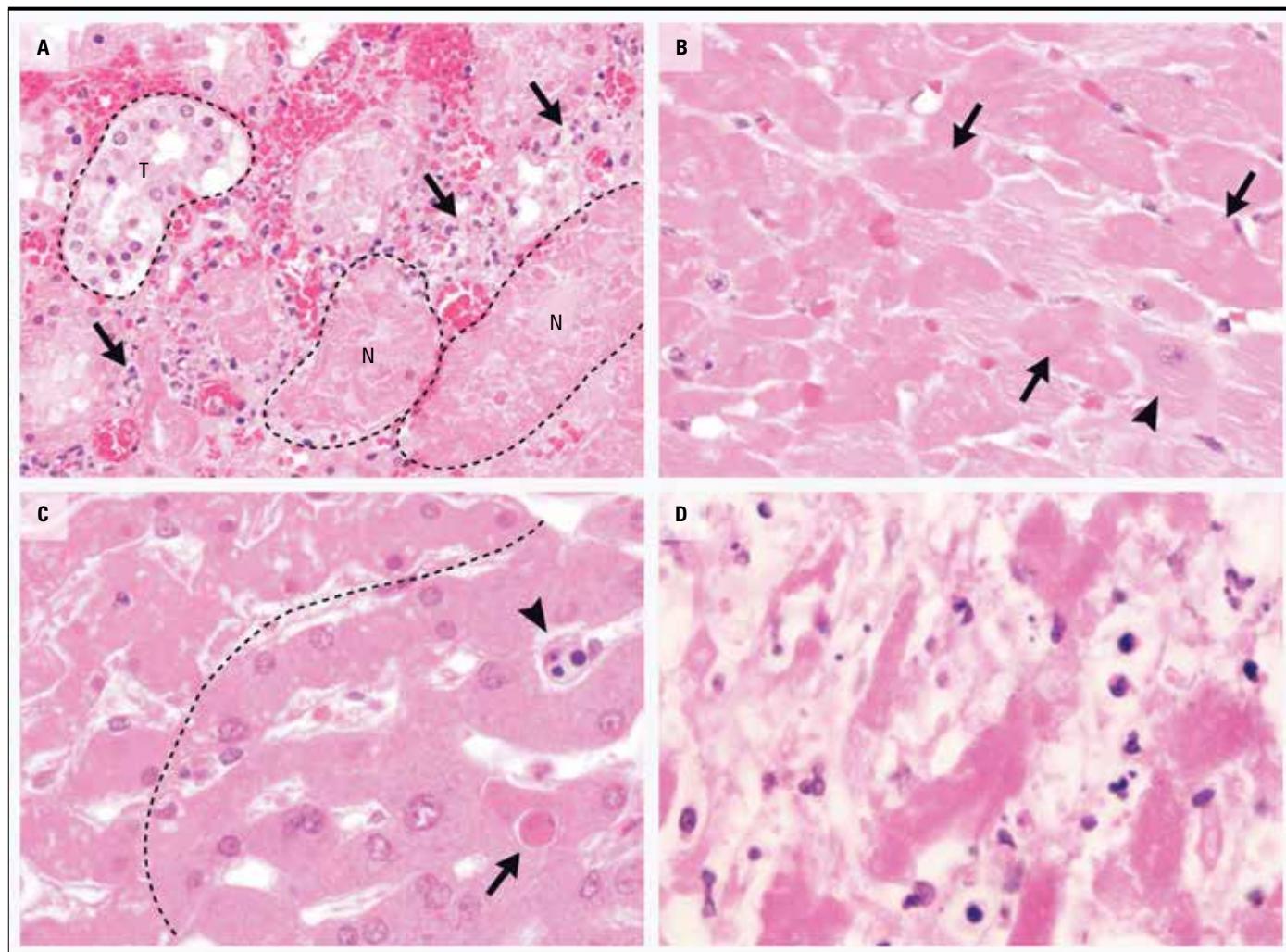
RYCINA 2



#### Komórki apoptotyczne w grasicy, wątrobie i jelicie.

Część A. Obraz z mikroskopu elektronowego komórki fagocytowej z licznymi tymocytami przechodzącymi apoptozę. Obkurczone jądra tymocytów mają charakterystyczny sierpowaty kształt, powstały w wyniku ułożenia chromatyny wzdłuż błony plazmatycznej jąder (strzałki). W górnej i dolnej części widoczne jądra o prawidłowym kształcie (barwienie octanem uranylu – cytrynianem ołowiu). Wycinek tkanki grasicy pochodzi od 26-letniej chorej po wypadku komunikacyjnym, u której wystąpiły powikłania w postaci ostrego zespołu niewydolności oddechowej i posocznicy. Część B. Pojedynczy hepatocyt w stadium apoptozy (strzałka) zawierający liczne obkurczone fragmenty jądra komórkowego wskazujące na przebiegającą apoptozę (barwienie hematoksyliną i eozyną). Preparat pochodzi od 81-letniego mężczyzny po wypadku komunikacyjnym, u którego powikłaniem stosowania respiratora było zapalenie płuc. Część C. Dwie sąsiadujące ze sobą krypty w błonie plazmatycznej jelita grubego, barwienie immunohistochemiczne w kierunku fragmentów powstałych w wyniku rozpadu cytokeratyny 18 (kolor brązowy). Cytokeratyna 18 ulega trawieniu przez aktywne kaspazy indukowane przez wewnętrzny lub zewnętrzny szlak apoptotyczny. Wybarwieniu ulegają komórki odłączone od ścianki jelita, obecne w świetle krypt jelitowych oraz komórki nabłonka wciąż przylegające do ścianek. Komórki te prezentują też klasyczną morfologię jąder komórkowych (znakowanie przeciwciałami w kierunku cytokeratyny 18 [klon M30] z barwieniem diaminobenzydyną i hematoksyliną). Próbkę tkanki pochodzi od 24-letniego mężczyzny z rozwarstwieniem ściany aorty i niedokrwieniem jelit po wypadku komunikacyjnym. Część D. Komórki nabłonka jelitowego z charakterystycznymi cechami apoptozy, tj. obkurczeniem jąder komórkowych i fragmentacją. Komórki nabłonka uwolnione do światła jelita (barwienie hematoksyliną i eozyną). Próbkę pochodzi od 23-letniego chorego z uszkodzeniem jelita wywołanym niedokrwieniem po operacji jelita cienkiego.

RYCINA 3



#### Śmierć komórki – apoptoza i martwica.

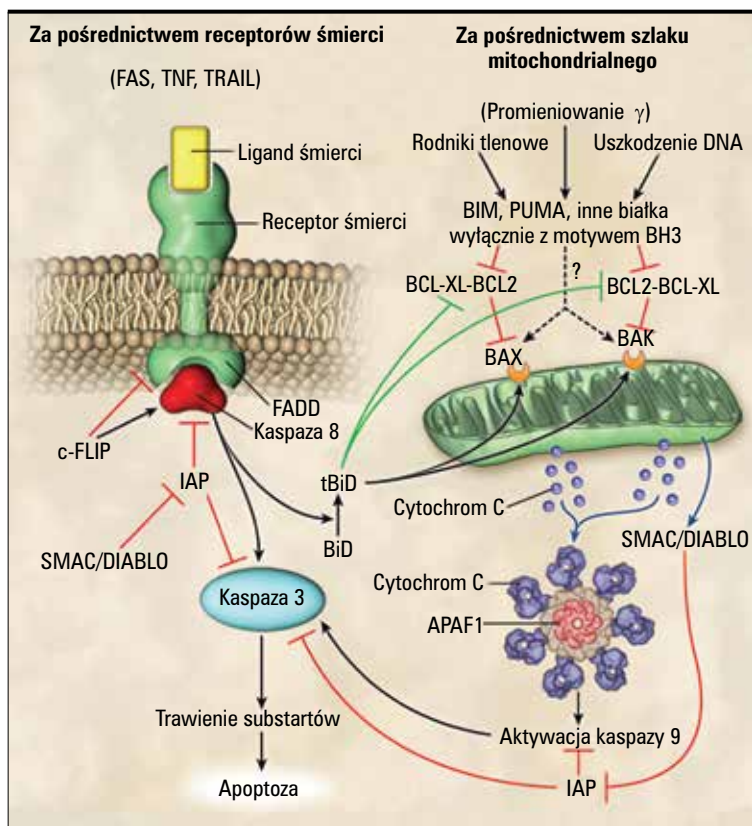
Część A. Przejście od komórek żywych do niedokrwionego mięszu w przypadku nekrozy kory nerek. Komórki martwicze charakteryzują się silnym barwieniem eozyną, utratą wyraźnie zaznaczonego jądra oraz wakuolizacją cytoplazmy. Względnie nienaruszony kanalik (tubule, T) widoczny w pobliżu charakterystycznych kanalików nekrotycznych (necrotic, N). Na obszarze przejściowym między kanalikami żywymi a nekrotycznymi (strzałki) występują liczne komórki apoptotyczne, prawdopodobnie granulocyty obojętnochłonne i jednojądrzaste komórki zapalne (barwienie hematoksyliną i eozyną). Wycinek nerki pochodzi od 42-letniej kobiety poddanej embolizacji tętnicy nerkowej w trakcie leczenia z powodu raka nerkowokomórkowego. Część B. Charakterystyczny obraz w martwicy kardiomiocytów. W porównaniu z prawidłowymi żywymi kardiomiocytami z jasno wybarwioną cytoplazmą i wyraźnie zaznaczonym jądrem (grot strzałki) komórki martwicze ulegają silnemu barwieniu eozyną, cechują się nierównomierną wakuolizacją cytoplazmy oraz utratą wyraźnie zaznaczonego jądra lub brakiem jądra (strzałki). Taki obraz morfologiczny jest charakterystyczny dla tzw. nekrozy koagulacyjnej (barwienie hematoksyliną i eozyną). Część C. Hepatocyty w wczesnych cechach nekrozy, w tym wakuolizacją i silnym barwieniem cytoplazmy eozyną, a także utratą wyraźnie zaznaczonego jądra (powyżej i na lewo od linii przerywanej). Widoczna sinusoidalna komórka zapalna (grot strzałki) oraz hepatocyt z obkurczonym i pofragmentowanym jądrem komórkowym – cechy charakterystyczne dla apoptozy (strzałka) (barwienie hematoksyliną i eozyną). Wycinek pochodzi od 53-letniego chorego na zapalenie płuc i bakterię wywołaną *Streptococcus pneumoniae*. Część D. Struktury w wątrobie zbliżone do przedstawionych w części C, z cechami typowymi dla bardziej zaawansowanej nekrozy, w tym pozostałości hepatocytów (sznury wybarwione eozyną) bez wyraźnych granic komórki lub rozpoznawalnego jądra. Komórki i fragmenty komórek widoczne wśród hepatocytów są produktami apoptozy. Prawdopodobnie odpowiadają apoptotycznym limfocytom lub granulocytom obojętnochłonnym w sinusoidach (barwienie hematoksyliną i eozyną). Wycinek pochodzi od 81-letniego chorego na zapalenie płuc z powodu stosowania respiratora.

#### Szlak receptorów śmierci

Aktywacja kaspaz kieruje komórki ku jednemu z dwóch odrębnych, ale zbiegających się szlaków: receptorów śmierci i mitochondrialnego (ryc. 4). Szlak recepto-

rów śmierci ulega aktywacji, gdy jeden z członków nadrodziny czynników martwicy nowotworów (tumor necrosis factor, TNF) wiąże się z występującymi na powierzchni komórki receptorami śmierci, członkami rodziny receptora TNF.<sup>27-31</sup> Połączenie ligandu z receptorem zapoczątk-

RYCINA 4



### Szlaki apoptozy komórkowej.

Występują dwa główne szlaki apoptozy: szlak receptora śmierci, w którym pośredniczą aktywowane receptory śmierci oraz regulowany BCL2 szlak mitochondrialny, w którym pośredniczą szkodliwe bodźce ostatecznie prowadzące do uszkodzenia mitochondrium. Połączenie receptorów śmierci prowadzi do rekrutacji domeny śmierci związanej z adaptorowym białkiem FAS (FADD). FADD z kolei rekrutuje kaspazę 8, co ostatecznie aktywuje kaspazę 3, kluczową kaspazę egzekutorową. Komórkowe białko hamujące FLICE (c-FLIP) może hamować lub nasilać wiązanie FADD i kaspazy 8, w zależności od jego stężenia. W szlaku wewnętrznym proapoptotyczne białka BH3 ulegają aktywacji przez bodźce szkodliwe, oddziałujące z i hamujące antyapoptotyczne białka BCL2 i BCL-XL. BAX i BAK mogą wówczas powodować zwiększenie przepuszczalności błony plazmatycznej mitochondrium, co prowadzi do uwolnienia cytochromu C i aktywacji kaspazy 9 przez apoptosom. Kaspaza 9 następnie aktywuje kaspazę 3. W wyniku zwiększenia przepuszczalności błony mitochondrialnej dochodzi także do uwolnienia białka SMAC/DIABLO, które hamuje działanie białek-inhibitorów apoptozy (IAP). Te ostatnie hamują aktywację kaspaz. Prawdopodobnie dochodzi do wzajemnych oddziaływań między elementami obu szlaków, w czym pośredniczy skrócona postać BID (tBid), powstająca w procesie, w którym pośredniczy kaspaza 8; tBid hamuje szlak BCL2-BCL-XL i aktywuje BAX i BAK. Trwa dyskusja (znak zapytania na rycinie), czy proapoptotyczne białka BH3 (np. BIM, PUMA) bezpośrednio oddziałują z BAX i BAK, indukując przepuszczalność błony jądrowej, czy działają jedynie na BCL2-BCL-XL. APAF1 – czynnik 1 aktywujący proteazę apoptotyczną, BH3 – homolog BCL, TNF – czynnik martwicy nowotworów, TRAIL – ligand indukujący apoptozę związany z TNF.

kowuje powstanie wielobiałkowego kompleksu przekazującego sygnał indukujący śmierć komórki.<sup>5,32,33</sup> Utworzenie tego kompleksu prowadzi do zmian konformacyjnych jego składników, które uruchamiają aktywność katalityczną kaspazy 8, głównego pośrednika w procesie apoptozy.

### Szlak mitochondrialny

Oddziaływania między proapoptotycznymi i antyapoptotycznymi białkami z rodziny BCL2 są kontrolowane przez mitochondrialny szlak apoptotyczny (tabela 1 w załączniku). Szlak ten reguluje kaspaza 9. Zostaje on uruchomiony po zasygnalizowaniu przez czujniki wewnątrzkomórkowe rozległych zniszczeń wewnątrz komórki.<sup>5,23,34</sup> Do czynników zapoczątkowujących przemianę tego szlaku należą: reaktywne formy tlenu, uszkodzenie DNA, odpowiedź na wystąpienie białek o nieprawidłowej strukturze trzeciorzędowej oraz pozbawienie komórki czynników wzrostu. Czynniki te przyczyniają się ostatecznie do zwiększenia przepuszczalności błony mitochondrialnej, sprzyjając tym samym uwalnianiu białek proapoptotycznych (np. cytochromu C) z przestrzeni międzybłonowej (przestrzeń występująca między warstwami podwójnej błony mitochondrialnej) do cytozolu (ryc. 4).<sup>35-38</sup> Kolejne z tych białek, homolog diablo (SMAC/DIABLO), antagonizuje cytozolowe inhibitory białek proapoptotycznych, umożliwiając w ten sposób aktywację kaspaz i progresję do apoptozy. Aktywowana kaspaza 8 (szlak receptora śmierci) oraz kaspaza 9 (szlak mitochondrialny) mobilizują kaspazy 3, 6 i 7, proteazy prowadzące do rozpadu komórki przez trawienie licznych białek oraz aktywację DNaz.<sup>23,38</sup>

Do czynników decydujących, które ze szlaków śmierci komórkowej ulegną aktywacji, należą: etap cyklu komórkowego, rodzaj i siła bodźca apoptotycznego oraz, w odniesieniu do komórek układu immunologicznego, etap aktywacji komórki.<sup>23,31,34</sup> Na przykład w przebiegu posocznicy zahamowanie któregośkolwiek ze szlaków prowadzi do umiarkowanego ograniczenia śmierci komórek, podczas gdy zahamowanie obu szlaków chroni większą liczbę komórek przed śmiercią. Podsumowując, liczne bodźce patologiczne uruchamiające różne szlaki apoptozy mogą występować jednocześnie.<sup>30</sup>

### Rodzina białek BCL2

Równowaga między proapoptotycznymi i antyapoptotycznymi członkami rodziny białek BCL2 kontroluje mitochondrialny szlak apoptozy (tabela 1 w załączniku).<sup>2,23,34</sup> Gen *BCL2* początkowo został wyodrębniony jako gen ulegający deregulacji w wyniku translokacji chromosomalnej t(14;18) w chłoniakach gruczolowych limfocytów B. Produkt tego genu, białko BCL2, hamuje apoptozę.<sup>5</sup> Obecność tego białka można łatwo wykryć w populacjach komórek rutynowo wymienianych na drodze apoptozy, takich jak komórki linii układu krwiotwórczego, komórki nabłonka jelitowego oraz nabłonka gruczołowego, w którym hormony regulują wzrost lub involucję.<sup>30</sup> Przynależność do rodziny BCL2 wiąże się z występowaniem w jego cząsteczce co najmniej jednej konserwowanej domeny homologicznej BCL2 (BH). Dzięki domenom BH możliwe jest łączenie się

TABELA

Modulatory farmakologiczne śmierci komórki w badaniach klinicznych*		
Choroba	Związek	Mechanizm działania
<b>Nowotwór</b>		
Białaczka, szpiczak mnogi, chłoniak nieziarniczy rak płuca, nowotwory lite	ABT-263, gossypol, GX15-070 (obatoclox)	Indukuje apoptozę, hamując białka proapoptotyczne z rodziny BCL2
Rak jelita grubego, niedrobnokomórkowy płuca, chłoniak nieziarniczy	Rekombinowane ludzkie białko Apo2L/TRAIL (dulanermina) i przeciwciało monoklonalne anti-TRAIL R1	Indukuje apoptozę, aktywując receptory śmierci TRAIL
Rak piersi, trzustki, jajnika, nowotwory lite, glejak	Inhibitory PARP	Zapobiegają naprawie pęknięć nici DNA, prowadząc do apoptozy
Szpiczak mnogi, rak piersi, rak gruczołu krokowego	Hydroksychlorochinon	Hamuje autofagię
Rak jajnika, drobnokomórkowy rak płuca, rak szyjki macicy	Topotekan (Hykantin)	Indukuje apoptozę, hamując topoizomerazę I, enzym odgrywający kluczową rolę w replikacji DNA
Rak piersi, nerki, odbytu, chłoniak olbrzymiokomórkowy z limfocytów B	Temsirolimus i syrolimus	Hamuje mTOR, prowadząc do autofagii, wywiera też inne działania
Niedrobnokomórkowy rak płuca, rak trzustki, rak piersi	Oligonukleotyd o sekwencji antysensownej względem genu dla XIAP (AEG35156)	Indukuje apoptozę, wyciszając gen kodujący endogenne inhibitory kaspazy
Ostra białaczka szpikowa	Antagonista survivaliny	Indukuje apoptozę, hamując survivalinę, endogenny inhibitor kaspazy
<b>Uszkodzenie wywołane niedokrwieniem-reperfuzją</b>		
Udar mózgu	Minocyklina	Redukuje apoptozę
Zawał mięśnia sercowego	Agonista mitochondrialnego ATP-zależnego kanału potasowego (nikorandil)	Redukuje nekrozę, zapobiegając utracie równowagi jonowej przez komórki, może także redukować apoptozę wpływając na MPTP
	Inhibitory PARP	Redukują nekrozę, zapobiegając energetycznym niedoborom w komórce
	Cyklosporyna	Redukuje apoptozę, hamując otwarcie MPTP
<b>Choroby neurodegeneracyjne</b>		
Stwardnienie zanikowe boczne	Arimoklomol	Redukuje apoptozę, usprawnia eliminację błędnie pofalowanych białek za pomocą mechanizmu, w którym uczestniczą białka szoku cieplnego
Choroba Huntingtona i choroba Alzheimera	Ursodiol	Redukuje apoptozę i utlenianie; inne działania
Choroba Parkinsona i choroba Alzheimera	Rasagilina	Redukuje apoptozę, inne działania
<b>Inne</b>		
Wirusowe zapalenie wątroby typu C	Inhibitory kaspazy IDN-6556, GS-9450	Redukują apoptozę, hamując kaspazy

\* Szczegóły dotyczące bieżącego stanu badań klinicznych przedstawiono w tabeli 1 w załączniku oraz na stronie ClinicalTrials.gov.

Większość leków wykorzystywanych w badaniach klinicznych chorób nowotworowych podaje się w połączeniu z chemioterapią, która indukuje apoptozę. MPTP – por przejściowej przepuszczalności błony mitochondrialnej, mTOR – cel rapamycyny dla ssaków, znany jako syrolimus, PPAR – polimeraza poli-ADP-rybozy, XIAP – inhibitor apoptozy sprzężony z chromosomem X.

z innymi białkami tej rodziny na drodze oddziaływań międzycząsteczkowych. Utworzenie takich kompleksów umożliwia regulację procesu apoptozy.

Promujące przeżycie komórek białka z rodziny BCL2, takie jak BCL-XL, BCLW, MCL1, A1 i BOO/DIVA posiadają co najmniej po cztery domeny BH. Białka te odgrywają kluczową rolę w przeżyciu i funkcjonowaniu komórek, zwłaszcza określonych komórek i indukcji określonych bodźców (tabela 1 w załączniku).<sup>40-43</sup> Proapoptotyczni członkowie rodziny białek BCL2

różnią się nie tylko pod względem pełnionej funkcji, ale także liczbą domen homologicznych BCL2. BAX i BAK zawierają po trzy domeny BH. Białka te pełnią kluczową rolę w zwiększaniu przepuszczalności błony mitochondrialnej oraz uwalnianiu cytochromu C, który aktywuje kaspazę 9. Niektóre białka proapoptotyczne, zawierające jedynie trzecią domenę BH (BH3),<sup>44,45</sup> wiążą się do antyapoptotycznych białek z rodziny BCL2, uwalniając z kompleksu proapoptotyczne białka BAX i BAK. Te ostatnie przyczyniają się do utraty

przepuszczalności błony mitochondrialnej i ostatecznie śmierci komórki.<sup>44-46</sup>

Równowaga między proapoptotycznymi białkami zawierającymi tylko domenę BH3 a antyapoptotycznymi członkami rodziny BCL2 decyduje o życiu lub śmierci komórki.<sup>34,47</sup> Białka zawierające jedynie domenę BH3 wykazują różną skłonność do uruchomienia procesu apoptozy.<sup>47,48</sup> Trzy z nich (BIM, PUMA i BID) wiążą się z dużym powinowactwem do wszystkich wspierających przeżycie komórki członków rodziny BCL2. Ponadto różne bodźce apoptotyczne preferencyjnie aktywują określone białka zawierające jedynie domenę BH3. BIM odgrywa kluczową rolę w indukcji apoptozy w odpowiedzi na brak czynników wzrostu, podczas gdy PUMA odgrywa główną rolę w apoptozie indukowanej uszkodzeniem DNA.<sup>49-51</sup> Jednoczesna utrata BIM i PUMA bardziej chroni przed czynnikami stymulującymi apoptozę niż brak jednego z tych białek, co przemawia za nakładającym się działaniem tych inicjatorów apoptozy.<sup>52</sup>

#### KLINICZNE IMPLIKACJE APOPTOZY

##### Nowotwór

W ponad 50% nowotworów następują zaburzenia w procesie apoptozy. Do najlepiej scharakteryzowanych nieprawidłowości należą nasilenie ekspresji promujących przeżycie członków rodziny białek BCL2 oraz mutacje w genie supresorowym nowotworu *TP53* kodującym białko TP53.<sup>53-55</sup> Gen ten, określany mianem strażnika genomu, zapoczątkowuje apoptozę w odpowiedzi na uszkodzenie DNA indukowane promieniowaniem, związkami chemicznymi, stresem oksydacyjnym oraz innymi czynnikami, przez indukcję transkrypcji wielu białek proapoptotycznych, w tym PUMA, NOXA i BAX. Dziedziczne zaburzenia w genie *TP53* (np. w zespole Li-Fraumeni) prowadzą do rozwoju licznych nowotworów, w tym glejaków i mięsaków.<sup>55</sup>

Większość leków cytotoksycznych indukuje apoptozę w komórkach nowotworowych (tabela). Inhibitor kinazy tyrozynowej, imatynib (Gleevec), zabija komórki przewlekłej białaczki szpikowej, nasilając ekspresję proapoptotycznych białek z rodziny BCL2, BIM i BAD.<sup>56</sup> ABT-737, związek niskocząsteczkowy o strukturze zbliżonej do struktury białka z domeną BH3, wiążący się do białek antyapoptotycznych BCL2 i BCL-XL, samodzielnie zabija pewne komórki nowotworowe i nasila skuteczność innych leków przeciwnowotworowych.<sup>10,57</sup> Stosowany doustnie analog ABT-737 (ABT-263) jest obecnie oceniany w badaniach klinicznych prowadzonych z udziałem chorych na nowotwory układu krwiotwórczego oraz w leczeniu adiuwantowym chorych na nowotwory lite.<sup>57</sup> Innymi lekami cytotoksycznymi o działaniu proapoptotycznym, ocenianymi obecnie w badaniach klinicznych, są surwiwina oraz inhibitor

apoptozy sprzężony z chromosomem X (XIAP). Oba te białka są endogennymi inhibitorami kaspaz proapoptotycznych.<sup>58</sup>

##### Układ immunologiczny

Zaburzenia apoptozy mogą zwiększać podatność na zapadanie na choroby autoodpornościowe.<sup>59</sup> W czasie rozwoju klony limfocytów B i T, w których zachodzi ekspresja receptorów dla antygenów własnych gospodarza (autoreaktywnych), ulegają delecji z repertuaru komórek układu odpornościowego. Delecja zależy od proapoptotycznego białka BIM zawierającego domenę BH3.<sup>60</sup> Co więcej, w niszczeniu dojrzałych aktywowanych antygenem limfocytów B i T podczas hamowania odpowiedzi immunologicznych pośredniczy zarówno BIM, jak i receptor śmierci FAS.<sup>30</sup> Autoimmunizacyjny zespół limfoproliferacyjny, charakteryzujący się znacznym uogólnionym powiększeniem węzłów chłonnych, rozwija się u chorych z zaburzeniami w ligandzie lub recepto-rze FAS.<sup>59</sup> Apoptoza komórek nabłonka jelitowego oraz keratynocytów podstawnych w chorobie przeszczep przeciw gospodarzowi jest zjawiskiem podobnym, pod względem czynnościowym. W cukrzycy typu 1 w utracie komórek  $\beta$  wysepek trzustkowych prawdopodobnie pośredniczy receptor śmierci FAS. Limfocyty T CD8, w których zachodzi ekspresja ligandu FAS, oddziałują z receptorami FAS na powierzchni komórek wydzielających insulinę, co powoduje śmierć tych komórek.<sup>61</sup>

##### Choroby układu nerwowego

Pojawia się coraz więcej dowodów świadczących, że apoptoza neuronów odgrywa kluczową rolę w zaburzeniach mózgu w okresie okołourodzeniowym.<sup>62</sup> Rozwijające się neurony są szczególnie wrażliwe na apoptozę uruchamianą w odpowiedzi na szkodliwe bodźce w okresie powstawania połączeń synaptycznych.<sup>63</sup> W okołourodzeniowym uszkodzeniu mózgu w wyniku niedotlenienia fenotyp śmierci komórki zmienia się w miarę upływu czasu z wczesnej nekrozy w apoptozę. Ten ewolucyjny proces określono terminem przejścia nekrozy w apoptozę (continuum nekroza-apoptoza). Są dowody wskazujące, że apoptoza odgrywa ważniejszą rolę w okołourodzeniowym uszkodzeniu mózgu niż nekroza.<sup>62</sup> Alkoholowy zespół płodowy jest skutkiem zwyrodnienia neuronów w wyniku apoptozy, do której dochodzi w odpowiedzi na indukowane alkoholem etylowym zahamowanie receptora N-metyl-D-asparagianinu (NMDA) i aktywację receptora kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego (GABA).<sup>64</sup> Znieczulenie ogólne także moduluje receptory NMDA i GABA. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że znieczulenie ogólne indukuje znaczną apoptozę neuronów u noworodków. Wywołało to poważne obawy, że wykorzystanie takiego znieczulenia u noworodków może wywoływać długotrwałe zaburzenia poznawcze.<sup>65</sup>

### Zapalenie wątroby

Hepatocyty są szczególnie podatne na apoptozę uruchamianą w odpowiedzi na różne bodźce stresowe, w tym zakażenie.<sup>29</sup> Badanie kliniczne poświęcone silnemu inhibitorowi kaspazy, IDN-6556, u chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C wykazało, że lek znamienne zmniejszał aktywność aminotransferaz alaminowej i asparaginianowej w surowicy badanych chorych.<sup>66</sup> Trwa także ocena IDN-6556 w ograniczaniu uszkodzeń spowodowanych niedokrwieniem i przywróceniem przepływu w przeszczepionej wątrobie (tabela).

### Choroby układu sercowo-naczyniowego

W uszkodzeniach spowodowanych niedokrwieniem przeważa nekroza, choć w strefie umiarkowanego niedotlenienia w przebiegu zawału mięśnia sercowego lub udaru mózgu oraz na obszarach uogólnionego niedokrwienia po uszkodzeniach wywołanych przywróceniem ukrwienia często występują komórki apoptotyczne. Jeśli wywołana niedotlenieniem aktywacja apoptozy jest przedwczesna, jej zahamowanie (np. przez inhibitory kaspaz) może zapobiec utracie komórek. Cyklosporyna, hamująca apoptozę przez zamykanie porów przejściowej przepuszczalności błony mitochondrialnej, może ograniczyć rozległość zmian w przebiegu ostrego zawału mięśnia sercowego.<sup>67</sup> Podczas badania pilotażowego 58 chorym z ostrym zawałem mięśnia sercowego bezpośrednio przed rozpoczęciem przeszłonej angioplastyki tętnic wieńcowych podano cyklosporynę lub fizjologiczny roztwór soli w szybkim wstrzyknięciu dożylnym. W piątym dniu po zabiegu bezwzględna masa obszaru nekrozy, oceniana na podstawie rezonansu magnetycznego, była znamienne mniejsza w grupie leczonej cyklosporyną w porównaniu z grupą kontrolną. Neurologiczne wyniki uzyskane u chorych z ostrym udarem mózgu, którym w ciągu 24 godzin podano minocyklinę, lek o działaniu antyapoptycznym, były znacznie lepsze niż wyniki uzyskane w grupie placebo.<sup>68</sup>

### Posocznica

Posocznica jest prawdopodobnie najbardziej spektakularną sytuacją kliniczną, w której dochodzi do apoptozy. Jest to masywna apoptoza komórek efektorowych układu odpornościowego oraz komórek nabłonka przewodu pokarmowego (ryc. 2 i 3 oraz ryciny 1-4 w załączniku).<sup>66-71</sup> Utrata dużej liczby komórek efektorowych układu odpornościowego w przebiegu posocznicy ogranicza zdolność tego układu do walki z pierwotnym zakażeniem i sprawia, że chory staje się podatny na zakażenia szpitalne. Wyniki wielu badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych świadczą o znaczącej roli apoptozy w nasileniu przebiegu posocznicy. Stwierdzono też, że zapobieganie apoptozie wywołanej przez posocznice poprawia przeżycie.<sup>72,73</sup>

### AUTOFAGIA

#### Definicja

Słowo autofagia pochodzi z określeń w języku greckim: jeść (phagy) samego siebie (auto). Po raz pierwszy wykorzystano je do opisu struktur obserwowanych w mikroskopie elektronowym, złożonych z cząstek o pochodzeniu lizosomalnym, otoczonych jedno- lub dwuwarstwową błoną plazmatyczną i zawierających elementy cytoplazmy, w tym organelle, w różnych stadiach dezintegracji<sup>74,75</sup> (ryc. 5). Obecnie wiadomo, że autofagia jest procesem, w którym komórki zużywają własne zbędne lub uszkodzone organelle i komponenty molekularne, nieodgrywające kluczowej roli.<sup>12-14</sup> Jest to odpowiedź adaptacyjna na czynniki wywołujące stres, nieprowadzące do śmierci komórki, takie jak niedobór substancji odżywczych dostarczających komórce metabolitów, które mogą być zużyte jako źródło paliwa. Autofagia odgrywa także rolę w zahamowaniu rozrostu nowotworu, delecji toksycznych białek o nieprawidłowo sformowanej strukturze trzeciorzędowej, eliminacji mikroorganizmów wewnątrzkomórkowych oraz prezentacji antygenów.<sup>12-14</sup>

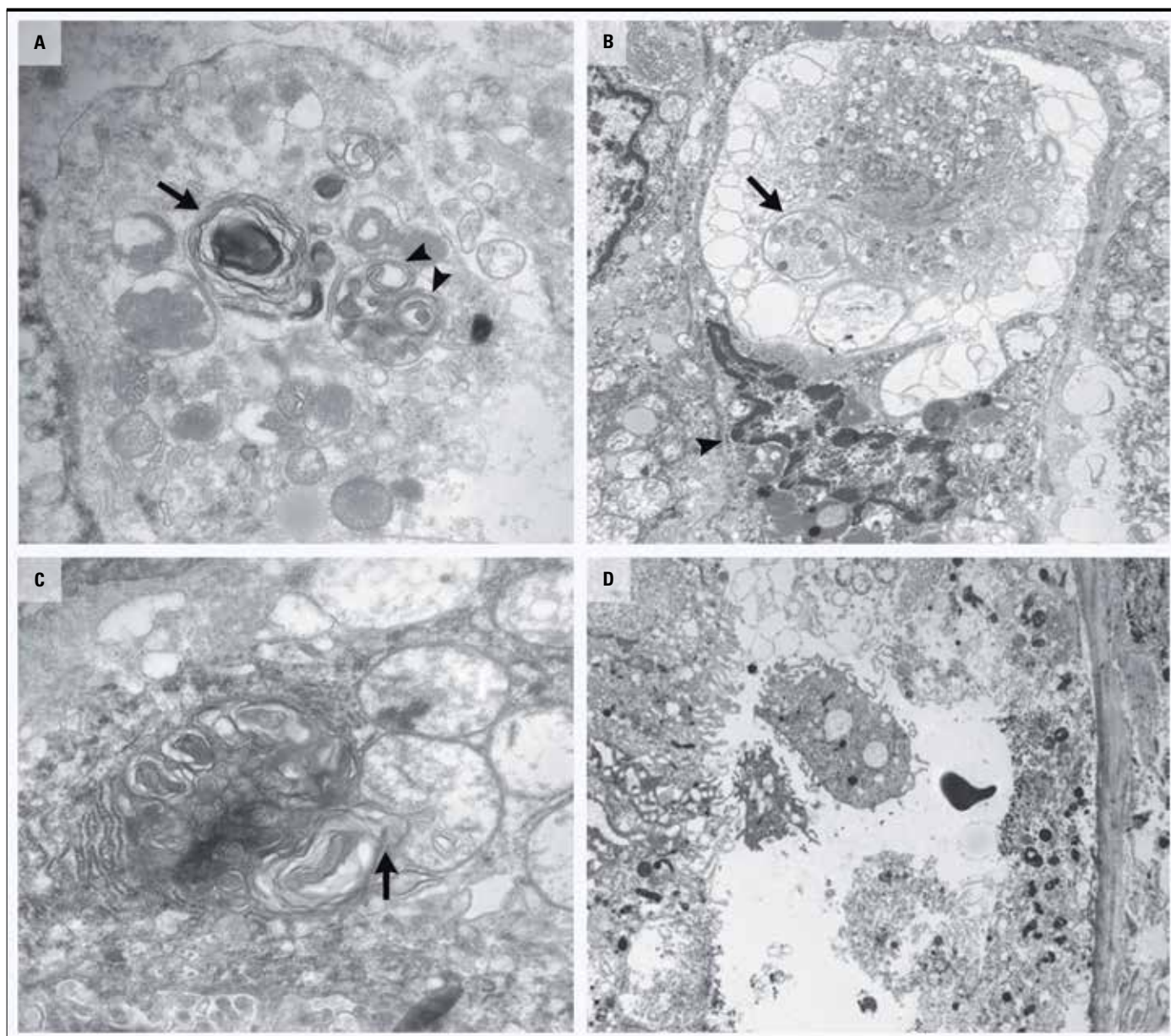
Na podstawie sposobu dostarczania do lizosomów materiału do degradacji wyróżniono trzy odmiany autofagii.<sup>12</sup> W makroautofagii struktury z podwójną błoną plazmatyczną (autofagosomy) otaczają materiał przeznaczony do degradacji, aby następnie zintegrować go z lizosomami. W mikroautofagii wgłobienie błony lizosomalnej otacza ładunek. W autofagii przebiegającej za pośrednictwem chaperonów substraty do lizosomów są dostarczane przez białka szoku cieplnego.

Najlepszą metodą obrazowania autofagosomów, podstawowego elementu autofagii, jest mikroskopia elektronowa (ryc. 5). Struktury te ulegają fuzji z lizosomami, gdzie kwaśne hydrolazy katabolizują wchłonięty materiał do substratów metabolicznych. Typowe spirale widoczne w autofagowych wakuolach to pozostałości błon plazmatycznych.<sup>74-76</sup> Powstawanie autofagosomów reguluje złożony kompleks białek uczestniczących w procesie autofagii (rycina 5 w załączniku).<sup>12,14</sup> Kompleks ten tworzą: kinaza 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K) zaliczana do kinaz klasy III i beklina 1 (BECN1), członek rodziny BCL2 należący do białek zawierających jedynie domenę BH3. Dodatkową kontrolę sprawuje kinaza białkowa serynowo-treoninowa mTOR (cel rapamycyny dla ssaków, znany też jako syrolimus). Kinaza ta integruje wpływ komórkowych substancji odżywczych, czynników wzrostu oraz stanu redox, hamując tworzenie się autofagosomu.

Rola autofagii w śmierci komórki budzi kontrowersje.<sup>77</sup> Zgodzono się wprawdzie, że autofagia jest odpowiedzią adaptacyjną, ale nie ustalono, czy może ona powodować takie ubytki organelli i krytycznych dla przetrwania komórki białek, które doprowadzą do niezależnej od kaspaz śmierci komórki bez oznak apoptozy



RYCINA 5



#### Autofagia i nekroza komórek w obrazie z mikroskopu elektronowego.

Część A. Widoczne dwa duże autofagosomy. Jeden z nich zawiera fragmenty organelli z wyraźnymi oznakami degradacji (strzałka), drugi zawiera mitochondria i inne organelle w różnych stadiach degradacji (groty strzałek). Wycinek pochodzi od 85-letniej kobiety z zapaleniem otrzewnej. Część B. Komórka z rozległą wakuolizacją w wyniku autofagii, z kilkoma pozostającymi nienaruszonymi organellami, autofagosom zawierający fragmenty mitochondriów (strzałka) oraz jądro komórkowe wykazujące cechy kondensacji (grot strzałki) – przykład śmierci komórkowej związanej z autofagią. Część C. Komórka z autofagosomami o bardziej złożonym wyglądzie zawierającymi liczne spiralne pozostałości błon plazmatycznych. Ta złożona struktura lizosomalna przylega i jest wpuklona do sąsiadującego z nią mitochondrium (strzałka). Wycinki przedstawione w częściach B i C pochodzą od 73-letniej kobiety z posocznicą moczową. Część D. Nekroza bliższego kanalika nerkowego, widoczne znamienne pęcznienie organelli i cytoplazmy, utrata rąbka szczoteczkowego i zanik wyraźnie zaznaczonej cytoplazmy. Wycinek pochodzi od 44-letniego mężczyzny z ostrą niewydolnością nerek, przebyłym zatruciem wankomycyną i marskością wątroby. Wycinki na wszystkich panelach barwiono octanem uranylu – cytrynianem ołowiu). Części A, B i C – reprodukcja z Watanabe i wsp.,<sup>75</sup> za zgodą wydawcy.

(ryc. 5C). Choć w niektórych umierających komórkach widać zwiększenie liczby autofagosomów, nie wiadomo, czy struktury te umożliwiają śmierć komórki, czy też są cechą świadczącą, że komórka nie jest już w stanie kom-

pensować braku substancji odżywczych przez zużywanie własnych struktur mających kluczowe znaczenie. Proces ten określa się mianem śmierci komórki związanej z autofagią, nie zaś śmierci komórki indukowanej przez auto-

fagię. Delecja genów kluczowych dla przebiegu autofagii raczej przyspiesza niż hamuje śmierć komórki, co podkreśla dominującą rolę autofagii jako mechanizmu mającego na celu ocalenie (przeżycie) komórki.<sup>3,11</sup>

#### Znaczenie kliniczne

Chociaż autofagia jest mechanizmem przetrwania dostarczającym komórce alternatywnych źródeł metabolitów, gdy brakuje substancji odżywczych,<sup>12,15,77</sup> może też chronić komórkę, eliminując uszkodzone mitochondria (które mogą uruchamiać apoptozę, wytwarzając nadmiar reaktywnych form tlenu) lub toksyczne białka o nieprawidłowej strukturze trzeciorzędowej, w tym także te, które prawdopodobnie uczestniczą w procesie neurodegeneracji. Leki aktywujące autofagię mogą powodować usunięcie toksycznych agregatów białkowych, takich jak zmutowane białka huntingtina lub tau w modelach chorób neurodegeneracyjnych.<sup>78-80</sup> Analogi rapamycyny (indukujące autofagię przez hamowanie mTOR) ograniczają stężenia białek poliglutaminowych i są skuteczne w zwierzęcych modelach choroby Huntingtona. Trwają badania oceniające ich skuteczność w ostrym uszkodzeniu mózgu.<sup>78-80</sup>

#### Nowotwór

Rola autofagii w nowotworach jest złożona.<sup>81-83</sup> Wprawdzie obecnie są dostępne jedynie dane asocjacyjne, autofagia prawdopodobnie pełni rolę supresora nowotworzenia. Wiele onkogenów (w tym członkowie rodziny *PI3K* i *AKT*, *BCL2* i *mTOR*) hamuje autofagię, podczas gdy supresory nowotworu (*PTEN*, *TSC2* i *HIF1A*) ją promują.<sup>83</sup> Ponadto skutkiem utraty indywidualnych genów wiązanych z autofagią w modelach mysich (zwłaszcza *BECN1*, *UVRAG* i *BIF1* [*ZBTB24*]) było powstawanie chłoniaków i nowotworów przewodów pokarmowego. Mutacje tych samych genów często towarzyszą nowotworom ludzkim, w tym rakom jelita i wątrobowokomórkowym.<sup>84-86</sup> Nie wydaje się zatem dziwne, że hydroksychlorochinon, lek przeciw malarii hamujący autofagię przez zwiększanie pH wewnątrz lizosomów, jest dziś przedmiotem onkologicznych badań klinicznych (tabela).<sup>81</sup> U chorych poddawanych chemioterapii autofagia może promować oporność na śmierć komórkową, zwłaszcza występującą w odpowiedzi na czynniki indukujące uszkodzenie DNA. Hydroksychlorochinon, hamując komórkową odpowiedź adaptacyjną, może nasilać eliminację komórek nowotworowych.

#### NEKROZA

##### Definicja

Nekrozę (termin pochodzący z greckiego słowa *necros*, tj. trup) najlepiej zdefiniowano na podstawie widocznego w mikroskopie elektronowym pęcznienia

komórek i organelli komórkowych oraz ich pęknięcia związanego z uwalnianiem elementów wewnątrzkomórkowych (ryc. 3 i 5 oraz rycina 6 w załączniku).<sup>4,29,87</sup> Niektórzy autorzy chętniej posługują się określeniem *oncosis* (od greckiego słowa pęcznienie), niekiedy zaś stosuje się termin pęczniająca nekroza (*oncotic necrosis*).<sup>4</sup> Rozpad błon plazmatycznych organelli pozwala enzymom proteolitycznym na wydostanie się z lizosomów do cytozolu i rozpoczęcie rozkładu komórki.<sup>17,20,87-92</sup> Martwica jest na ogół wynikiem zapaści metabolicznej zbiegającej się z szybkim wyczerpaniem ATP. Klasycznie występuje w stanach niedokrwienia.<sup>26,88</sup>

Nekrozę uznaje się zwykle za przypadkową (inaczej: nieprogramowaną) odmianę śmierci komórki występującą w odpowiedzi na ostre uszkodzenie wywołane niedotlenieniem lub niedokrwieniem, takie jak zawał mięśnia sercowego lub udar mózgu. Występuje spontanicznie w nowotworach, gdy proliferacja komórek wyprzedza angiogenezę. Ekspozycja komórek na warunki przekraczające fizjologiczne (np. siłę mechaniczną, ciepło, zimno oraz toksyny wpływające na przepuszczalność błon plazmatycznych) także powoduje martwicę.

#### Mediatory procesu

Reaktywne formy tlenu, jony wapnia, polimeraza poli-ADP-rybozy (PARP), nielizosomalne proteazy aktywowane wapniem (kalpainy) i katepsyny to czynniki związane z nekrozą.<sup>89,92</sup> PARP jest enzymem uczestniczącym w naprawie DNA. Podczas naprawy licznych pęknięć nici DNA powstających w trakcie uszkodzenia komórek może nastąpić zużycie komórkowych zapasów ATP. W procesie apoptozy PARP ulega szybkiemu trawieniu i inaktywacji (jednym z testów diagnostycznych w kierunku apoptozy jest wykrywanie fragmentów PARP), co umożliwia utrzymywanie zapasów ATP, które są niezbędne w celu przeprowadzenia wielu procesów efektorowych zachodzących w przebiegu apoptozy. Wyczerpanie komórkowych zapasów ATP prowadzi do wyłączenia apoptozy i przełączenia na proces nekrozy. Zahamowanie aktywności PARP ogranicza nekrozę w urazach związanych z niedokrwieniem lub przywróceniem przepływu, a także w innych typach uszkodzeń tkanki.<sup>93,94</sup> Wyrzut jonów wapnia do cytoplazmy, główna cecha nekrozy, aktywuje proteazy degradujące kluczowe białka. Co ciekawe, w zależności od źródła i stopnia zwiększenia stężenia jonów wapnia regulacji podlega typ śmierci komórki: napływ jonów wapnia przez błonę plazmatyczną uruchamia nekrozę, podczas gdy uwalnianie jonów wapnia z siateczki endoplazmatycznej prowadzi raczej do indukcji apoptozy.<sup>17,95</sup>

#### Programowana czy regulowana?

Coraz więcej dowodów wskazuje, że nekroza jest procesem bardziej zorganizowanym niż początkowo uważano. Gdy komórki umierają w procesie nekrozy,

do krążenia przedostają się cząsteczki charakterystyczne dla nekrotycznego niszczenia komórek i ich organelli (damage-associated molecular-pattern, DAMP), takie jak białko HMGB1 (high-mobility group box 1), które aktywują komórki wrodzonej (nieswoistej) odpowiedzi odpornościowej.<sup>96</sup> Zatem pierwsze komórki umierające w wyniku uszkodzenia lub zakażenia mogą działać jak czujniki alarmujące gospodarza o konieczności uruchomienia odpowiedzi obronnych i naprawczych. Ponadto nekroza może być zapoczątkowywana w wyniku aktywacji wybranych receptorów powierzchniowych komórek. Na przykład duże stężenie TNF indukuje nekrozę hepatocytów.<sup>21,26</sup> Wykrycie wewnątrzkomórkowej serpiny (inhibitora proteaz), która zapobiega nekrozie wywołanej przez liczne szkodliwe bodźce, wskazuje, że ten proces może być regulowany, programowany i sterowany za pośrednictwem szlaku peptydazy uruchamianej w odpowiedzi na stres.<sup>20</sup>

Inne, mniej poznane odmiany śmierci komórkowej (np. piroptoza i paraptoza) przedstawiono w rozdziale „Alternatywne formy śmierci komórkowej” załącznika.

#### WZAJEMNE ODDZIAŁYWANIA MIĘDZY MECHANIZMAMI ŚMIERCI KOMÓRKI

Sposób śmierci komórki określają rodzaj i natężenie sygnałów szkodliwych, stężenie ATP, typ komórki oraz inne czynniki.<sup>11</sup> Ostre niedokrwienie mięśnia sercowego (które prowadzi do szybkiego i znacznego zmniejszenia stężenia ATP) pobudza nekrozę, podczas gdy przewlekła wrodzona niewydolność serca (z bardziej umiarkowanym przewlekłym zmniejszeniem stężenia ATP) zapoczątkowuje apoptozę<sup>97</sup> (ryc. 3). Zahamowanie określonego szlaku śmierci komórki może nie zapobiec destrukcji komórki. Może natomiast uruchamiać szlak alternatywny: antyapoptotyczne inhibitory kaspaz powodują maszyną nekrozę hepatocytów i indukowaną TNF- $\alpha$  nekrozę komórek kanalików nerek.<sup>98-100</sup> Nadekspresja białek antyapoptotycznych może promować przeżycie uszkodzonych komórek, a towarzysząca temu procesowi autofagia może dostarczać kluczowych metabolitów do dalszej proliferacji.<sup>15</sup> Jeśli jednak bodziec wywołujący śmierć działa nadal, szlaki autofagii i antyapoptotyczne stopniowo zostają wyłączone, co prowadzi do nekrozy. Co więcej, zahamowanie autofagii może indukować w takich komórkach proces apoptozy.<sup>101,102</sup> Jądrowy czynnik  $\kappa$ B, ATG5, ATP i PARP prawdopodobnie pełnią rolę molekularnych przełączników determinujących, który z procesów, apoptoza, nekroza czy autofagia, zostanie uruchomiony.<sup>26,88,93,103-105</sup> Białko TP53 nie tylko moduluje odpowiedzi na stres komórkowy, ale także autofagię. Wyniki najnowszych badań wskazują, że aktywacja TP53 utrzymująca się na poziomie podstawowym hamuje autofagię. Natomiast silniejsza aktywacja TP53 przez określone bodźce pobudza ten proces, pod-

czas gdy aktywacja TP53 przez inne bodźce prowadzi do uruchomienia szlaku apoptotycznego, w którym uczestniczą PUMA i NOXA.<sup>106-108</sup>

#### WPLYW UMIERAJĄCYCH KOMÓREK NA UKŁAD ODPORNOŚCIOWY

Wpływ umierających komórek na odporność jest ekscytującym polem badań.<sup>96,109-111</sup> Komórki apoptotyczne indukują anergię lub fenotyp immunosupresyjny, podczas gdy komórki nekrotyczne nasilają stan zapalny, częściowo przez wiązanie receptora z rodziny CLEC9A (C-type lectin domain rodziny 9) na komórkach dendrytycznych do dendrytów.<sup>112</sup> Podanie komórek apoptotycznych myszom przed ekspozycją na pasożyty znacznie zwiększa miano pasożytów we krwi w porównaniu z myszami z grupy kontrolnej. U myszy, którym podano komórki nekrotyczne, obserwowano znaczne zmniejszenie obciążenia pasożytem.<sup>113</sup> Podobnie u myszy, którym podano komórki apoptotyczne przed indukcją zapalenia otrzewnej, odsetek zgonów był większy niż w grupie kontrolnej, podczas gdy u myszy, które otrzymały komórki nekrotyczne, odsetek przeżyć był większy.<sup>114</sup>

#### KIERUNKI DALSZYCH BADAŃ

Początkowe próby terapeutycznej modulacji śmierci komórki dostarczyły zaskakujących i paradoksalnych wyników.<sup>2,6-8,16</sup> Na przykład niektóre białka komórkowe indukujące śmierć komórki (pro-death protein) ogrywają również kluczową rolę w przeżyciu komórki. Kaspaza 8 i jej aktywator FADD (FAS-associated death domain), odgrywają kluczową rolę nie tylko w apoptozie przebiegającej za pośrednictwem receptora śmierci, ale również w indukowanym antygenem rozplemie limfocytów T i różnicowaniu makrofagów.<sup>27,32,115</sup> Ponadto zahamowanie wielu szlaków śmierci komórki może utrzymać komórki przy życiu, ale te, które przetrwają, mogą być martwe pod względem czynnościowym, a zatem bezużyteczne (tzw. komórki zombie).<sup>116,117</sup>

Obiecującym obszarem w leczeniu nowotworów jest aktywacja receptorów śmierci. W przeciwieństwie do komórek prawidłowych, wiele komórek nowotworowych jest wrażliwych na ligand TRAIL indukujący apoptozę związany z TNF (TNF-related apoptosis inducing ligand). Trwają badania kliniczne oceniające TRAIL i przeciwciała przeciw receptorowi TRAIL u chorych na raka jelita grubego, niedrobnokomórkowego raka płuca i chłoniaka nieziarniczego.<sup>118</sup> U chorych na białaczkę, szpiczaka mnogiego oraz w innych typach nowotworów ocenia się skuteczność proapoptotycznych mimetyków BH3.<sup>10,57</sup> Leki hamujące endogenne inhibitory apoptozy oceniano w badaniach klinicznych, w których uczestniczyli chorzy na białaczkę, raka trzustki, raka płuca

i inne nowotwory narządów mięsnych.<sup>119,120</sup> W wielu badaniach klinicznych ocenia się również inhibitory PARP. Są to peptydy zapobiegające naprawie DNA, a przez to silnie uwrażliwiające komórki nowotworowe na działanie leków cytotoksycznych.<sup>121</sup>

#### ZAPOBIEGANIE ŚMIERCI KOMÓRKOWEJ

Zapobieganie śmierci komórki jest trudniejsze niż jej indukcja. Różne formy śmierci komórkowej mogą występować równocześnie ze względu na skoordynowane uwalnianie licznych bodźców indukujących śmierć komórki. W uszkodzeniu z niedokrwienia-przywrócenia przepływu śmierć komórki mogą niezależnie pobudzać: reaktywne formy tlenu, przeładowanie jonami wapnia oraz aktywacja niszczących proteaz. Umożliwienie przeżycia wymaga zatem jednoczesnego skierowania działań na liczne szlaki śmierci komórkowej lub wyłonięcia i zahamowania punktów wspólnych w szlakach przekazywania sygnałów związanych ze śmiercią komórki. Mimo tych trudności obserwuje się znaczący postęp (tabela). Zahamowanie kalpain i katepsyn, silnych proteaz odpowiedzialnych za martwicę, ogranicza rozwój choroby w modelach zwierzęcych.<sup>122,123</sup> Nikorandyl, lek kardioprotekcyjny, którego celem są mitochondrialne kanały potasowe zależne od ATP, zmniejsza stężenie troponiny T w surowicy chorych poddawanych pomostowaniu aortalno-wieńcowemu.<sup>124</sup> Przedmiotem badań poświęconych skuteczności leków antyapoptotycznych i nasilających autofagię są obecnie choroby Huntingtona, Parkinsona, Alzheimerera oraz stwardnienie zanikowe boczne.<sup>125,126</sup> Skutecznym narzędziem terapeutycznym może się też okazać zapoczątkowanie hamowania procesów metabolicznych. Chociaż mechanizmy prowadzące do wkroczenia komórki w stan hibernacji pozostają niejasne, ważne mediatory tego stanu niskoenergetycznego są już lepiej poznane. Jednym z takich związków jest 5'-AMP pozwalający zwierzętom nieulegającym hibernacji na bezpieczne przejście w stan hipotermii.<sup>116</sup>

#### PIŚMIENNICTWO

- Melino G. The Sirens' song. *Nature* 2001;412:23.
- Adams JM, Cory S. Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential. *Curr Opin Immunol* 2007;19:488-96.
- Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ* 2009;16:3-11.
- Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis: an overview of cell death. *Am J Pathol* 1995;146:3-15.
- Marsden VS, Strasser A. Control of apoptosis in the immune system: Bcl-2, BH3-only proteins and more. *Annu Rev Immunol* 2003;21:71-105.
- Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995;267:1456-62.
- Reed JC. Drug insight: cancer therapy strategies based on restoration of endogenous cell death mechanisms. *Nat Clin Pract Oncol* 2006;3:388-98.
- Green DR, Kroemer G. Pharmacological manipulation of cell death: clinical applications in sight? *J Clin Invest* 2005;115:2610-7.
- Miller JB, Girgenrath M. The role of apoptosis in neuromuscular diseases and prospects for anti-apoptosis therapy. *Trends Mol Med* 2006;12:279-86.
- Lessene G, Czabotar PE, Colman PM. BCL-2 family antagonists for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:989-1000.
- Galluzzi L, Maiuri MC, Vitale I, et al. Cell death modalities: classification and pathophysiological implications. *Cell Death Differ* 2007;14:1237-43.
- Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:931-7.
- Kroemer G, Jaattälä M. Lysosomes and autophagy in cell death control. *Nat Rev Cancer* 2005;5:886-97.

#### PODSUMOWANIE

Wiele pytań pozostaje bez odpowiedzi. Dlaczego niektóre komórki, takie jak neurony znacznie łatwiej niż inne giną pod wpływem niedokrwienia? W jaki sposób komórka wybiera dany typ śmierci komórkowej? W jaki sposób dochodzi do przestawienia komórki z programu uzdrowienia po zadziałaniu czynnika stresującego na program prowadzący do jej śmierci? Jakie kryteria kierują selekcją szlaku śmierci komórki? Kiedy komórka nieodwracalnie wkracza na drogę śmierci? Odpowiedzi na te i inne pytania ostatecznie pozwolą na głębsze zrozumienie śmierci komórki, procesu stanowiącego podstawę, na której można opierać opracowane i wprowadzone do praktyki klinicznej nowe metody leczenia.

Artykuł wspierany przez granty (GM44118 i GM55194) z National Institutes of Health, Leukemia and Lymphoma Society of America, National Health and Medical Research Council of Australia oraz Alan A. and Edith L. Wolff Foundation.

Autorzy dziękują dr. Eizo Watanabe za udostępnienie zdjęć preparatów wątroby z mikroskopu elektronowego, dr Helen Liapis za udostępnienie zdjęć preparatów nerek z mikroskopu elektronowego, dr. Kevinowi Tinsleyowi za wykonanie barwienia immunohistochemicznego licznych próbek tkankowych, dr. dr. Craigowi Coopersmithowi, Timothy'emu Buchmanowi i J. Perren Cobbowi za liczne stymulujące rozmowy i pomoc w pobieraniu wycinków tkankowych, a także innym badającym zagadnienie śmierci komórki za ich pracę i inspirację.

Dr Hotchkiss otrzymał grant z firmy Pfizer, dr Strasser otrzymał wynagrodzenie za konsultację od firm Genentech i Abbott Laboratories oraz grant z firmy Genentech. Nie zgłoszono żadnych innych potencjalnych konfliktów interesów, które mogłyby mieć wpływ na niniejszy artykuł.

From The New England Journal of Medicine 2009; 361: 1570-1583. Translated and reprinted in its entirety with permission of the Massachusetts Medical Society. Copyright © 2009, 2010 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

- 14 Levine B, Deretic V. Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 2007;7:767-77.
- 15 Levine B, Abrams J. p53: The Janus of autophagy? *Nat Cell Biol* 2008;10:637-9.
- 16 Bouchier-Hayes L, Lartigue L, Newmeyer DD. Mitochondria: pharmacological manipulation of cell death. *J Clin Invest* 2005;115:2640-7.
- 17 Zong WX, Thompson CB. Necrotic death as a cell fate. *Genes Dev* 2006;20:1-15.
- 18 Golstein P, Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends Biochem Sci* 2007;32:37-43.
- 19 Festjens N, Vanden Berghe T, Vandenabeele P. Necrosis, a well-orchestrated form of cell demise: signaling cascades, important mediators and concomitant immune response. *Biochim Biophys Acta* 2006;1757:1371-87.
- 20 Luke CJ, Pak SC, Askew YS, et al. An intracellular serpin regulates necrosis by inhibiting the induction and sequelae of lysosomal injury. *Cell* 2007;130:1108-19.
- 21 Laster SM, Wood JG, Gooding LR. Tumor necrosis factor can induce both apoptotic and necrotic forms of cell lysis. *J Immunol* 1988;141:2629-34.
- 22 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.
- 23 Strasser A. The role of BH3-only proteins in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2005;5:189-200.
- 24 Youle RJ, Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:47-59.
- 25 Nishimura Y, Lemasters JJ. Glycine blocks opening of a death channel in cultured hepatic sinusoidal endothelial cells during chemical hypoxia. *Cell Death Differ* 2001;8:850-8.
- 26 Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology* 2006;43:S31-44.
- 27 Salmena L, Lemmers B, Hakem A, et al. Essential role for caspase 8 in T-cell homeostasis and T-cell-mediated immunity. *Genes Dev* 2003;17:883-95.
- 28 Sheridan C, Martin SJ. Commitment in apoptosis: slightly dead but mostly alive. *Trends Cell Biol* 2008;18:353-7.
- 29 Lemasters JJ. Dying a thousand deaths: redundant pathways from different organelles to apoptosis and necrosis. *Gastroenterology* 2005;129:351-60.
- 30 Hughes PD, Belz GT, Fortner KA, Budd RC, Strasser A, Bouillet P. Apoptosis regulators Fas and Bim cooperate in shutdown of chronic immune responses and prevention of autoimmunity. *Immunity* 2008;28:197-205.
- 31 Green DR. Apoptotic pathways: ten minutes to dead. *Cell* 2005;121:671-4.
- 32 Newton K, Harris AW, Bath ML, Smith KG, Strasser A. A dominant interfering mutant of FADD/MORT1 enhances deletion of autoreactive thymocytes and inhibits proliferation of mature T lymphocytes. *EMBO J* 1998;17:706-18.
- 33 Yu JW, Shi Y. FLIP and the death effector domain family. *Oncogene* 2008;27:6216-27.
- 34 Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. *Cell* 2004;116:205-19.
- 35 Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 1997;91:479-89.
- 36 Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 2000;102:33-42.
- 37 Wu H, Tschopp J, Lin SC. Smac mimetics and TNF-alpha: a dangerous liaison? *Cell* 2007;131:655-8.
- 38 Goldstein JC, Munoz-Pinedo C, Ricci JE, et al. Cytochrome c is released in a single step during apoptosis. *Cell Death Differ* 2005;12:453-62.
- 39 Hockenbery DM, Zutter M, Hickey W, Nahm M, Korsmeyer SJ. BCL2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:6961-5.
- 40 Yin XM, Wang K, Gross A, et al. Bid-deficient mice are resistant to Fas-induced hepatocellular apoptosis. *Nature* 1999;400:886-91.
- 41 McKenzie MD, Carrington EM, Kaufmann T, et al. Proapoptotic BH3-only protein Bid is essential for death receptor-induced apoptosis of pancreatic beta-cells. *Diabetes* 2008;57:1284-92.
- 42 Kaufmann T, Tai L, Ekert PG, et al. The BH3-only protein bid is dispensable for DNA damage- and replicative stress-induced apoptosis or cell-cycle arrest. *Cell* 2007;129:423-33.
- 43 Zong WX, Lindsten T, Ross AJ, MacGregor GR, Thompson CB. BH3-only proteins that bind pro-survival Bcl-2 family members fail to induce apoptosis in the absence of Bax and Bak. *Genes Dev* 2001;15:1481-6.
- 44 Kim H, Rafiuddin-Shah M, Tu HC, et al. Hierarchical regulation of mitochondrion-dependent apoptosis by BCL-2 subfamilies. *Nat Cell Biol* 2006;8:1348-58.
- 45 Kuwana T, Bouchier-Hayes L, Chipuk JE, et al. BH3 domains of BH3-only proteins differentially regulate Bax-mediated mitochondrial membrane permeabilization both directly and indirectly. *Mol Cell* 2005;17:525-35.
- 46 Willis SN, Fletcher JI, Kaufmann T, et al. Apoptosis initiated when BH3 ligands engage multiple Bcl-2 homologs, not Bax or Bak. *Science* 2007;315:856-9.
- 47 Chipuk JE, Green DR. How do BCL-2 proteins induce mitochondrial outer membrane permeabilization? *Trends Cell Biol* 2008;18:157-64.
- 48 Chen L, Willis SN, Wei A, et al. Differential targeting of pro-survival Bcl-2 proteins by their BH3-only ligands allows complementary apoptotic function. *Mol Cell* 2005;17:393-403.
- 49 Bouillet P, Metcalf D, Huang DC, et al. Proapoptotic Bcl-2-reducing Bim required for certain apoptotic responses, leukocyte homeostasis, and to preclude autoimmunity. *Science* 1999;286:1735-8.
- 50 Villunger A, Michalak EM, Coultas L, et al. p53 and Drug-induced apoptotic responses mediated by BH3-only proteins puma and noxa. *Science* 2003;302:1036-8.
- 51 Jeffers JR, Parganas E, Lee Y, et al. Puma is an essential mediator of p53-dependent and -independent apoptotic pathways. *Cancer Cell* 2003;4:321-8.
- 52 Erlacher M, Michalak EM, Kelly PN, et al. BH3-only proteins Puma and Bim are rate-limiting for gamma-radiation- and glucocorticoid-induced apoptosis of lymphoid cells in vivo. *Blood* 2005;106:4131-8.
- 53 Vaux DL, Cory S, Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature* 1988;335:440-2.
- 54 Strasser A, Harris AW, Bath ML, Cory S. Novel primitive lymphoid tumours induced in transgenic mice by cooperation between myc and bcl-2. *Nature* 1990;348:331-3.
- 55 Vazquez A, Bond EE, Levine AJ, Bond GL. The genetics of the p53 pathway, apoptosis and cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:979-87.
- 56 Kuroda J, Puthalakath H, Cragg MS, et al. Bim and Bad mediate imatinib-induced killing of Bcr/Ab1+ leukemic cells, and resistance due to their loss is overcome by a BH3 mimetic. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:14907-12. [Erratum, *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103:16614.]
- 57 Cragg MS, Harris C, Strasser A, Scott CL. Unleashing the power of inhibitors of oncogenic kinases through BH3 mimetics. *Nat Rev Cancer* 2009;9:321-6.
- 58 Tolcher AW, Mita A, Lewis LD, et al. Phase I and pharmacokinetic study of YM155, a small-molecule inhibitor of survivin. *J Clin Oncol* 2008;26:5198-203.
- 59 Oliveira JB, Gupta S. Disorders of apoptosis: mechanisms for autoimmunity in primary immunodeficiency diseases. *J Clin Immunol* 2008;28:Suppl 1:S20-S28.
- 60 Bouillet P, Purton JF, Godfrey DI, et al. BH3-only Bcl-2 family member Bim is required for apoptosis of autoreactive thymocytes. *Nature* 2002;415:922-6.
- 61 Foulis AK. Pancreatic pathology in type 1 diabetes in human. *Novartis Found Symp* 2008;292:2-13.
- 62 Ferriero DM. Neonatal brain injury. *N Engl J Med* 2004;351:1985-95.
- 63 Barinaga M. Neurobiology: a new clue to how alcohol damages brains. *Science* 2000;287:947-8.
- 64 Ikonomidou C, Bittigau P, Ishimaru MJ, et al. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. *Science* 2000;287:1056-60.
- 65 Loepke AW, Istaphanos GK, McAuliffe JJ III, et al. The effects of neonatal isoflurane exposure in mice on brain cell viability, adult behavior, learning, and memory. *Anesth Analg* 2009;108:90-104.
- 66 Pockros PJ, Schiff ER, Shiffman ML, et al. Oral IDN-6556, an antiapoptotic caspase inhibitor, may lower aminotransferase activity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2007;46:324-9.
- 67 Piot C, Croisille P, Staat P, et al. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2008;359:473-81.
- 68 Lampl Y, Boaz M, Gilad R, et al. Minocycline treatment in acute stroke: an open-label, evaluator-blinded study. *Neurology* 2007;69:1404-10.
- 69 Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 1999;27:1230-51.
- 70 Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol* 2001;166:6952-63.
- 71 Hotchkiss RS, Schmiege RE Jr, Swanson PE, et al. Rapid onset of intestinal epithelial and lymphocyte apoptotic cell death in patients with trauma and shock. *Crit Care Med* 2000;28:3207-17.
- 72 Hotchkiss RS, Nicholson DW. Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis. *Nat Rev Immunol* 2006;6:813-22.
- 73 Ayala A, Perl M, Venet F, Lomas-Neira J, Swan R, Chung CS. Apoptosis in sepsis: mechanisms, clinical impact and potential therapeutic targets. *Curr Pharm Des* 2008;14:1853-9.
- 74 Ashford TP, Porter KR. Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes. *J Cell Biol* 1962;12:198-202.
- 75 Watanabe E, Muenzer JT, Hawkins WG, et al. Sepsis induces extensive autophagic vacuolization in hepatocytes: a clinical and laboratory-based study. *Lab Invest* 2009;89:549-61.
- 76 Espert L, Denizot M, Grimaldi M, et al. Autophagy is involved in T cell death after binding of HIV-1 envelope proteins to CXCR4. *J Clin Invest* 2006;116:2161-72.
- 77 Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent victim? *J Clin Invest* 2005;115:2679-88.
- 78 Ravikummar B, Vacher C, Berger Z, et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity

- of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet* 2004;36:585-95.
- 79 Sarkar S, Rubinsztein DC. Small molecule enhancers of autophagy for neurodegenerative diseases. *Mol Biosyst* 2008;4:895-901.
- 80 Bossy B, Perkins G, Bossy-Wetzel E. Clearing the brain's cobwebs: the role of autophagy in neuroprotection. *Curr Neuropharmacol* 2008;6:97-101.
- 81 Amaravadi RK, Thompson CB. The roles of therapy-induced autophagy and necrosis in cancer treatment. *Clin Cancer Res* 2007;13:7271-9.
- 82 Marx J. Autophagy: is it cancer's friend or foe? *Science* 2006;312:1160-1.
- 83 Maiuri MC, Tasdemir E, Criollo A, et al. Control of autophagy by oncogenes and tumor suppressor genes. *Cell Death Differ* 2009;16:87-93.
- 84 Takahashi Y, Coppola D, Matsushita N, et al. Bif-1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and regulates autophagy and tumorigenesis. *Nat Cell Biol* 2007;9:1142-51.
- 85 Ahn CH, Jeong EG, Lee JW, et al. Expression of beclin-1, an autophagy-related protein, in gastric and colorectal cancers. *APMIS* 2007;115:1344-9.
- 86 Liang C, Feng P, Ku B, et al. Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG. *Nat Cell Biol* 2006;8:688-99.
- 87 Cellular adaptation, cell injury, and cell death. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins & Cotran pathologic basis of disease. Philadelphia: Saunders, 2005:4-46.
- 88 Leist M, Single B, Castoldi AF, Kühnle S, Nicotera P. Intracellular adenosine triphosphate (ATP) concentration: a switch in the decision between apoptosis and necrosis. *J Exp Med* 1997;185:1481-6.
- 89 Conus S, Simon HU. Cathepsins: key modulators of cell death and inflammatory responses. *Biochem Pharmacol* 2008;76:1374-82.
- 90 Liu X, Van Vleet T, Schnellmann RG. The role of calpain in oncotic cell death. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2004;44:349-70.
- 91 Turk B, Stoka V. Protease signalling in cell death: caspases versus cysteine cathepsins. *FEBS Lett* 2007;581:2761-7.
- 92 Conus S, Perozzo R, Reinheckel T, et al. Caspase-8 is activated by cathepsin D initiating neutrophil apoptosis during the resolution of inflammation. *J Exp Med* 2008;205:685-98.
- 93 Los M, Mozoluk M, Ferrari D, et al. Activation and caspase-mediated inhibition of PARP: a molecular switch between fibroblast necrosis and apoptosis in death receptor signaling. *Mol Biol Cell* 2002;13:978-88.
- 94 Jagtap P, Szabo C. Poly (ADP-ribose) polymerase and the therapeutic effects of its inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4:421-40.
- 95 Vanlangenakker N, Berghe TV, Krysko DV, Festjens N, Vandenabeele P. Molecular mechanisms and pathophysiology of necrotic cell death. *Curr Mol Med* 2008;8:207-20.
- 96 Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat Rev Immunol* 2005;5:331-42.
- 97 Schneider MD. Cyclophilin D: knocking on death's door. *Sci STKE* 2005;2005 (287):pe26.
- 98 Vandenabeele P, Vanden Berghe T, Festjens N. Caspase inhibitors promote alternative cell death pathways. *Sci STKE* 2006;2006(358):pe44.
- 99 Sato T, Machida T, Takahashi S, et al. Apoptosis supercedes necrosis in mitochondrial DNA-depleted Jurkat cells by cleavage of receptor-interacting protein and inhibition of lysosomal cathepsin. *J Immunol* 2008;181:197-207.
- 100 Cauwels A, Janssen B, Waeytens A, Cuvelier C, Brouckaert P. Caspase inhibition causes hyperacute tumor necrosis factor-induced shock via oxidative stress and phospholipase A2. *Nat Immunol* 2003;4:387-93.
- 101 Ravikumar B, Berger Z, Vacher C, O'Kane CJ, Rubinsztein DC. Rapamycin pre-treatment protects against apoptosis. *Hum Mol Genet* 2006;15:1209-16.
- 102 Boya P, Gonzalez-Polo RA, Casares N, et al. Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. *Mol Cell Biol* 2005;25:1025-40.
- 103 Luo JL, Kamata H, Karin M. IKK/NFkappaB signaling: balancing life and death – a new approach to cancer therapy. *J Clin Invest* 2005;115:2625-32.
- 104 Yousefi S, Perozzo R, Schmid I, et al. Calpain-mediated cleavage of Atg5 switches autophagy to apoptosis. *Nat Cell Biol* 2006;8:1124-32.
- 105 Moubarak RS, Yuste VJ, Artus C, et al. Sequential activation of poly (ADP-ribose) polymerase 1, calpains, and Bax is essential in apoptosis-inducing factor-mediated programmed necrosis. *Mol Cell Biol* 2007;27:4844-62.
- 106 Tasdemir E, Maiuri MC, Galluzzi L, et al. Regulation of autophagy by cytoplasmic p53. *Nat Cell Biol* 2008;10:676-87.
- 107 Maclean KH, Dorsey FC, Cleveland JL, Kastan MB. Targeting lysosomal degradation induces p53-dependent cell death and prevents cancer in mouse models of lymphomagenesis. *J Clin Invest* 2008;118:79-88. [Erratum, *J Clin Invest* 2008;118:1584.]
- 108 Murray-Zmijewski F, Slee EA, Lu X. A complex barcode underlies the heterogeneous response of p53 to stress. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:702-12.
- 109 Schwulst SJ, Davis CG, Coopersmith CM, Hotchkiss RS. Adoptive transfer of dying cells causes bystander-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;353:780-5.
- 110 Martinon F, Tschopp J. NLRs join TLRs as innate sensors of pathogens. *Trends Immunol* 2005;26:447-54.
- 111 Johnson GB, Brunn GJ, Platt JL. Activation of mammalian Toll-like receptors by endogenous agonists. *Crit Rev Immunol* 2003;23:15-44.
- 112 Sancho D, Joffre OP, Keller AM, et al. Identification of a dendritic cell receptor that couples sensing of necrosis to immunity. *Nature* 2009;458:899-903.
- 113 Freire-de-Lima CG, Nascimento DO, Soares MB, et al. Uptake of apoptotic cells drives the growth of a pathogenic trypanosome in macrophages. *Nature* 2000;403:199-203. [Erratum, *Nature* 2000;404:904.]
- 114 Hotchkiss RS, Chang KC, Grayson MH, et al. Adoptive transfer of apoptotic splenocytes worsens survival, whereas adoptive transfer of necrotic splenocytes improves survival in sepsis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:6724-9.
- 115 Koenig A, Russell JQ, Rodgers WA, Budd RC. Spatial differences in active caspase-8 defines its role in T-cell activation versus cell death. *Cell Death Differ* 2008;15:1701-11.
- 116 Lee CC. Is human hibernation possible? *Annu Rev Med* 2008;59:177-86.
- 117 Narula J, Arbustini E, Chandrasekhar Y, Schwabiger M. Apoptosis and the systolic dysfunction in congestive heart failure: story of apoptosis interruptus and zombie myocytes. *Cardiol Clin* 2001;19:113-26.
- 118 Plummer R, Attard G, Pacey S, et al. Phase 1 and pharmacokinetic study of lexatimumab in patients with advanced cancers. *Clin Cancer Res* 2007;13:6187-94.
- 119 Hunter AM, LaCasse EC, Korneluk RG. The inhibitors of apoptosis (IAPs) as cancer targets. *Apoptosis* 2007;12:1543-68.
- 120 LaCasse EC, Mahoney DJ, Cheung HH, Plenchette S, Baird S, Korneluk RG. IAP-targeted therapies for cancer. *Oncogene* 2008;27:6252-75.
- 121 Lord CJ, Ashworth A. Targeted therapy for cancer using PARP inhibitors. *Curr Opin Pharmacol* 2008;8:363-9.
- 122 Jiang SX, Lertvorachon J, Hou ST, et al. Chlortetracycline and demeclocycline inhibit calpains and protect mouse neurons against glutamate toxicity and cerebral ischemia. *J Biol Chem* 2005;280:33811-8.
- 123 Koumura A, Nonaka Y, Hyakkoku K, et al. A novel calpain inhibitor, ((1S)-1-(((1S)-1-benzyl-3-cyclopropylamino-2,3-dioxopropyl)amino) carbonyl)-3-methylbutyl)carbamate 5-methoxy-3-oxapentyl ester, protects neuronal cells from cerebral ischemia-induced damage in mice. *Neuroscience* 2008;157:309-18.
- 124 Yamamoto S, Yamada T, Kotake Y, Takeda J. Cardioprotective effects of nicorandil in patients undergoing on-pump coronary artery bypass surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2008;22:548-53.
- 125 Cudkovic ME, Shefner JM, Simpson E, et al. Arimoclomol at dosages up to 300 mg/day is well tolerated and safe in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 2008;38:837-44.
- 126 Weinreb O, Mandel S, Bar-Am O, et al. Multifunctional neuroprotective derivatives of rasagiline as anti-Alzheimer's disease drugs. *Neurotherapeutics* 2009;6:163-74.