

ЋЕЛИЈСКА СМРТ

Милица Матавуљ

Департман за биологију и екологију,
Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, 21000 Нови Сад

Хомеостаза организма се одржава непрекидном променом морфологије и функције његових ћелија. Успешан одговор ћелије на промењене екстрацелуларне услове означен је као адаптација и она се може манифестовати као атрофија, хипертрофија, хиперплазија и метаплазија. Међутим, уколико деловање стресора превазиђе адаптивни капацитет ћелије долази до ћелијског оштећења које може бити реверзибилно или иреверзибилно што је узрок ћелијске смрти. Постоје два основна начина ћелијске смрти и означени су као: а) некроза и б) апоптоза. Некроза настаје као последица физичко-хемијског стреса и то најчешће услед прекида дотока крви или услед излагања ћелије деловању токсина, а карактерише се бубрењем ћелије, денатурацијом и деструкцијом интрацелуларних протеина. Апоптоза је, међутим, физиолошки облик ћелијске смрти која има кључну улогу у ембриогенези и у одржању сталности у броју ћелија у ткивима адултног организма.

Бројни су стресори који могу иреверзибилно оштетити ћелију и узроковати њену некрозу, почевши од оних које изазивају груба физичка оштећења ћелија до оних који узрокују промене на генском нивоу. Најчешћи узроци некрозе су: а) хипоксија, која настаје услед слабе оксигенације крви, исхемије, оштећења артеријских или венских крвних судова, б) деловање физичких стресора који укључују: механичку трауму, излагање екстремно високим или ниским температурама, електрични шок и наглу промену атмосферског притиска, в) излагање јонизујућем и нејонизујућем зрачењу, г) хемијским агенсима (глукоза, со, вода, токсини, лекови, пестициди, угљен моноксид, азбест, алкохол, наркотици, дуван и др.), д) инфективни агенси (приони, вируси, рикетије, бактерије, гљиве, паразити), е) имунолошке реакције (анафилактичка реакција, аутоимуне болести), ж) генетска оштећења (урођене малформације), дефектни протеини (нпр. хемоглобин) и ензими (лизозомалне болести) и з) нутритивни дисбаланс (дефицит протеина и витамина, претерано уношење хране и др). Оштећење ткива и органа наведеним факторима има за последицу ћелијску смрт означену као патолошка ћелијска смрт или некроза, што долази од грчке речи "некрос" што значи мртво тело. Дуго је сматрано да некроза настаје као последица иреверзибилног целуларног оштећења и да над овим процесом сама ћелија нема никакву контролу. Међутим, истраживања у новије време су покатазала да се и у случају некрозе може говорити о виду програмиране ћелијске смрти (Festjens и сар., 2007). Некроза настаје као резултат интеракције неколико биохемијских и молекуларних процеса који се одвијају на различитим нивоима у ћелији. Скорија истраживања су показала да серин/треонин киназа RIP1, која садржи тзв. домен смрти, може бити главни иницијатор процеса некрозе (Zong и Thompson, 2006), док кључну улогу у њеној пропагацији и коначном извршењу имају калцијум и реактивне кисеоничке форме (ROS). У некрози долази до повећања нивоа калцијума и његовог повећаног акумулације у митохондријама што узрокује енергетску компромитацију ћелије и активацију протеаза и фосфолипаза, док ROS директно или индиректно узрокују оштећења протеина, липида и ДНК што ће кулминирати губљењем интегритета ћелијских органела и саме ћелије. Нарушени интегритет ћелијске мембране има за последицу губитак њене способности да врши селективну пропустљивост. Ово омогућује слободно кретање катјона у правцу изједначавања њиховог концентрацијског градијента, као и улазак

течности у ћелију, што резултира њеним бубрењем. Према тачан молекуларни механизам одговоран за некрозу ћелије још увек није познат сматра се да важну улогу у овом процесу имају и лизозомални ензими, пре свега катепсини, који се након руптуре лизозомалних мембрана ослобађају у цитосол (који је ацидификован услед смањене количине кисеоника) и ту се активирају. Некроза се морфолошки карактерише интензивном вакуолизацијом цитоплазме, бубрењем митохондрија, дилатацијом ендоплазматског ретикулума и руптуром ћелијске мембране што има за последицу ослобађање ћелијског садржаја у интерцелуларни простор, а то доводи до оштећења суседних ћелија и иницирањем имфламаторног одговора (Yuan и сар., 2003). Некроза се најчешће јавља у случајевима исхемије, хипоксије, инфаркта или трауме (Lee и сар., 1999), као и у неким неуродегенеративним болестима као што су Алцхајмерова или Паркинсонова болест (Martin, 1999; Martin, 2001; Taylor и сар., 2002)

Апоптоза је, за разлику од некрозе, строго детерминисан механизам програмиране ћелијске смрти који су развили еукариотски организми током милиона година свог еволутивног развоја. Она је деценијама била позната као физиолошка ћелијска смрт, а термин апоптоза први пут је употребљен 1972 године (Kerr и сар., 1972) да би се њиме описале морфолошке карактеристике овог феномена. Апоптоза се у ћелији индукује »сигналима смрти« који активирањем специфичних протеаза доводе до дезинтеграције нуклеуса и цитоплазме на апоптотичка тела која бивају фагоцитована од стране макрофага и сличних ћелија, на такав начин да то нема никаквих последица по околне ћелије. Апоптоза се нормално одвија за време развоја и старења и део је хомеостатског механизма којим се регулише бројност ћелијске популације у ткивима. Исто тако, запажена је у ћелијама имуног система и у ћелијама оштећеним неким патогеним агенсима (Norbury и Hickson, 2001). Велики број стимулуса, како физиолошких тако и патолошких могу бити окидачи за процес апоптозе, али не у свим, већ само одређеним ћелијама циљних ткива. Посебно треба истаћи да у неким случајевима тип стимулуса или његов интензитет одрђује да ли ће ћелија умрети апоптозом или некрозом. На пример, низак степен радијације или хипоксије, као и ниске дозе цитотоксичних антиканцерогених лекова могу узроковати апоптозу, док исти стимулуси у високом степену или вишим дозама узрокују некрозу.

У нормалној физиологији апоптоза је комплементарна са митозом, али од ње има супротну улогу у регулацији бројности ћелијских популација, тако да само одржавање равнотеже између ова два процеса обезбеђује ткивну хомеостазу. Установљено је да у људском телу свакога дана настане 10 милијарди нових ћелија, али исто толико их и нестане апоптозом (Renahan и сар., 2001). Поред улоге у регулацији укупног броја ћелија једног ткива апоптоза је важна за нормалну ембриогенезу и метаморфозу. Тако, приликом формирања нервног, као и имуног система долази до прекомерне продукције ћелија, али сви неурони који не успоставе функционалне синапсе, као и лимфоцити који не успоставе продукцију специфичних антитела подлежу ћелијској смрти апоптозом (Nijhawan и сар., 2000; Opferman и Korsmeyer, 2003). Апоптозом се такође уклањају ћелије које угрожавају интегритет организма, као што су ћелије инфициране вирусима, аутореактивне ћелије имуног система, ћелије са оштећеном ДНК и малигно трансформисане ћелије. Поред тога, апоптоза је важна и у ремоделовању различитих ткива у адултним организмима, као што се то дешава при атрезији постовулаторних фоликула или при инволуцији млечне жлезде након лактације (Tilly и сар., 1991; Lund и сар., 1996). Исто тако, апоптозом се елиминишу ћелије оштећене у процесу старења, коју према једној од теорија, примарно индукује оксидативни стрес услед кога долази до акумулације оштећења митохондријалне ДНК слободним радикалима (Ozawa, 1995).

Данашње знање о целуларним механизмима који су укључени у процес апоптозе у сисарским ћелијама у великој мери потичу од проучавања програмиране ћелијске смрти која су спроведена на нематоди *Caenorhabditis elegans*. Током развоја, од укупно

1090 ћелија ове нематоде њих 131 умиру апоптозом, што узрокују мутације гена означеног као цед-3 који кодира продукцију протеина цед-3 неопходног за апоптозу (Yuan и сар., 1993). Протеин цед-3, како је установљено, хомолог је сисарској протеази интерлеукин 1 β - конвертујућем ензиму (ICE), означеном и као каспаза-1, који је неопходан за конверзију про-интерлеукина 1 у активну форму, што је упућивало да протеолиза лежи у основи апоптозе. Апоптоза је процес који укључује активацију групе протеаза означених као каспазе. Њихова активација се одвија у каскадном низу, од иницијалног стимулуса, до ћелијске смрти.

Каспазе су ендопротеазе које садрже цистеин и имају способност да цепају протеински супстрат на Ц-терминалној страни ланца резидуа аспартантске киселине. Оне се у ћелијама нормално налазе у форми процаспаза и када се једном активирају иреверзибилно иницирају каскадну активацију других каспаза и на тај начин амплифицирају апоптотички сигнал, што резултира брзом ћелијском смрти. До данас је у хуманим ћелијама идентификовано десет главних каспаза које су подељене на иницијаторне (каспазе-2,-8,-9,-10), ефекторне или егзекуторне (каспазе-3,-6,-7) и инфламаторне (каспазе-1,-4,-5)(Cohen, 1997; Rai и сар., 2005).

Активација апоптозе може бити извршенима сигнаlima који долазе из ванћелијског простора (спољашњи сигнални пут), као и онима који долазе из саме ћелије (унутрашњи сигнални пут).

Спољашњи сигнални пут активације апоптозе подразумева покретање апоптозе сигналним молекулама преко трансмембранских рецептора циљне ћелије тзв. рецептора смрти. Рецептори смрти припадају фамилији рецептора тумор некрозис фактора (TNF) и имају сличан, цистеином богат екстрацелуларни домен, док им је цитоплазматични домен састављен од 80 аминокиселина и назива се домен смрти (Ashkenazi и Dixit, 1998). Они имају кључну улогу у трансмисији сигнала смрти са површине ћелије у интрацелуларни сигнални пут. Тако нпр. активирани ћелије имуног система, као цитотоксични Т лимфоцити, на својој површини експресују протеин Фас лиганд (FasL или CD95 лиганд) који се веже за Фас рецептор (рецептор смрти, назива се још и рецептор CD95) на циљној ћелији. Ово је окидач за агрегацију интрацитоплазматичног домена овог рецептора (домен смрти) са интрацитоплазматичним адаптер протеином означеним као протеин повезан са доменом смрти Фас рецептора (FADD). Овом агрегату ће се даље придружити иницијаторна процаспаза-8 са којим ће створити сигнални комплекс - иницијатор смрти (DISC). У овом комплексу активира се каспаза-8 која ће даље директно активирати ефекторну каспазу – 3 која ће иницирати деградацију ћелије. Активирана каспаза 8 такође цепа инактивни интрацитоплазматични протеин BID и тако га преводи у активну форму tBID. Овај протеин се даље укључује, као сигнална молекула, у унутрашњи сигнални пут активације апоптозе тако што се уграђује у митохондријалну мембрану и олакшава ослобађање цитохрома ц.

Активирани цитотоксични Т лимфоцит може да испољи свој цитотоксични ефекат на туморску ћелију или ћелију инфицирану вирусима преко једног новог сигналног пута који укључује секрецију протеина перфорина који се инкорпорира у мембрану циљне ћелије где формира трансмембрански канал. Кроз ове трансмембранске канале активирани лимфоцити у циљну ћелију ослобађају грануле које садрже серин протеазе гранзимин А и гранзимин Б (Trapani и Smyth, 2002). Обе ове протеазе индукују апоптозу, гранзимин Б директном активацијом каспазе-3, док гранзимин А активира каспазу једним потпуно независним сигналним путем (Russell и Leу, 2002; Fan и сар., 2003)

Унутрашњи сигнални пут активације апоптозе се покреће стимулусима који се не преносе преко рецептора, већ индукују интрацелуларне сигнале који директно делују на циљне структуре у ћелији, а пре свега на митохондрије. Ови интрацелуларни сигнали могу имати позитиван и негативан утицај на процес апоптозе. Негативни

сигнали се односе на одсуство фактора раста, хормона и цитокина, што има за последицу немогућност супресивног деловања на програмирану ћелијску смрт и активацију апоптозе. Сигнали који делују позитивно на апоптозу су радијација, токсини, хипоксија, хипертермија, вирусне инфекције и слободни радикали. Сви ови стимулуси узрокују промене у унутрашњој митохондријалној мембрани што резултира отварањем тзв. пора митохондријалне пермеабилне транзиције, губитком митохондријалног трансмембранског потенцијала и ослобађањем две главне групе про-апоптотичких протеина из интрамембранског простора митохондрија у цитосол (Saelens и сар., 2004). Прву групу ових протеина чине: цитохром ц, Smac/DIABLO и серија протеаза означених као ХтрА2/Оми (Du и сар., 2000; Garrido и сар., 2005). Они активирају унутрашњи сигнални пут активације апоптозе тј. каспазе зависне од митохондрија. Цитохром ц се веже и активира фактор активације апоптозе-1 (Апаф-1) као и прокаспазу-9, чиме се формира комплекс означен као апоптозом (Chinnaiyan, 1999; Hill и сар., 2004) у коме се активира каспаза-9, док протеини Smac/DIABLO и HtrA2/Omi подстичу апоптозу инхибирањем активности инхибитора апоптотичких протеина (IAP) (Shimmer, 2004).

Другу групу про-апоптотичких протеина која се ослобађа из митохондрија током апоптозе чине протеини: фактор индукције апоптозе (AIF), ендонуклеаза Г и CAD и одговорни су за догађаје у каснијој фази овог процеса. AIF се транслоцира у нуклеус и узрокује ДНК фрагментацију и периферну кондензацију хроматина (Jozsa и сар., 2001). Ендонуклеаза Г се такође транслоцира у нуклеус где цепа хроматин у олигонуклеозомалне фрагменте ДНК (Li и сар., 2001).

Стресни сигнали покрећу унутрашњи пут активације апоптозе тако што подстичу везивање про-апоптотичких ензима из цитоплазме означени као BAX и BAD за спољашњу митохондријалну мембрану и омогућују излазак две, већ поменуто, главне групе про-апоптотичких протеина из интрамембранског простора митохондрија у цитосол. За контролу и регулацију промена на митохондријама везаних за апоптозу одговорни су протеини из фамилије Bcl-2 (Cory и Adams, 2002). До сада је у хуманим ћелијама откривено 15 чланова ове фамилије, који, променом пермеабилности митохондријалних мембрана, односно регулацијом отпуштања цитохрома ц, могу остваривати про-апоптотичко деловање, преко Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik, и Bkl, и анти-апоптотичко деловање преко Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w и BAG. Главну улогу у регулацији активности протеина Bcl-2 фамилије има тумор супресор протеин p53, транскрипциони фактор који регулише ћелијски циклус (Schuler и Green, 2001), механизмом који, међутим, још увек није познат.

Резултат активности и спољашњег и унутрашњег апоптотичког сигналног пута је финална фаза у којој се активирају ефекторне каспазе, а оне даље активирају ендонуклеазе које деградирају ДНК као и протеазе које деградирају једарне и цитоскелетне протеине. Ефекторне или егзекуторне каспазе (каспаза-3, каспаза-6 и каспаза-7) цепају различите интраћелијске протеинске субстрате укључујући цитокератин, алфа фодрин (цитоскелетни протеин плазмалне мембране), једарни протеин означен као NuMA и друге, што узрокује низ морфолошких промена карактеристичних за ћелије у апоптози (Slee и сар., 2001).

Сматра се да је каспаза-3 најважнија ефекторна каспаза и да се она активира неком од иницијатор каспаза (каспаза-8, каспаза-9 или каспаза-10). Каспаза-3 је специфични активатор ендонуклеазе CAD која се у ћелији, која пролиферише, налази у комплексу са инхибитором, односно као ICAD, док у апоптотичкој ћелији каспаза-3 цепа ICAD при чему се ослобађа CAD (Sakahira и сар., 1998). CAD деградира хромозомалну ДНК у нуклеусу и узрокује кондензацију хроматина.

Каспаза-3 такође узрокује реорганизацују цитоскелета и дезинтеграцују ћелије у апоптотичка тела. Гелзолин, актин везујући протеин, је идентификован као кључна субстанца на коју делује ова каспаза што резултира нарушавањем интегритета

цитоскелета, интрацелуларног транспорта, ћелијске деобе и сигналне трансдукције (Kothakota и сар., 1997).

Фагоцитоза је последња, завршна фаза апоптозе. Фосфолипидна асиметрија и екстернализација фосфатидил серина на површину ћелијске мембране главне су одлике ове фазе апоптозе. Премда механизам транслокације фосфатидил серина на површину ћелијске мембране још није сасвим јасан, он је повезана са губитком активности аминокиселинских транслоказа и неспецифичне флип-флоп измене фосфолипида (Bratton и сар., 1997). Појава фосфатидил серина на површини апоптотичких тела омогућује њихово препознавање од страге фагоцитних ћелија као и саму фагоцитозу која се одвија без ослобађања садржаја ових тела у екстрацелуларни простор што омогућује финализовање овог процеса без инфламаторног одговора (Fadok и сар., 2001).

Дисфункција апоптотичких сигналних путева узрок је, како је то већ истакнуто, бројних болести, од којих посебан интерес постоји за везу између апоптозе и канцерогенезе као и AIDS-а. Промене у ћелијском сигналингу могу да узрокују дисрегулацију апоптозе што доводи до појаве тумора. Тумор супресор ген p53 је транскрипциони фактор који регулише ћелијски циклус и врло је подложен мутацијама. Показано је да до ове мутације долази у 50% хуманих канцера (Wang и Harris, 1997). Улога протеина p53 је да у случају оштећења ДНК активира ДНК репаративни протеин. Он, такође, може задржати ћелијски циклус на регулаторној тачци G1/S и иницирати апоптозу уколико се оштећење не може поправити (Pientropol и Stewart, 2002). Међутим, уколико дође до оштећења овог гена радијацијом, различитим хемијским субстанцама или вирусом какав је хумани папилома вирус (HPV), у ћелији са дефектном ДНК се не индукује апоптоза већ јој је, због супресије апоптозе, омогућава неограничена пролиферација, чиме се потстиче пропација процеса туморогенезе. Други важан фактор у туморогенези је баланс између проапоптотичких и антиапоптотичких чланова Bcl-2 фамилије. У туморској ћелији, мутација Bcl-2 гена која резултира у повећању његове експресије ће супресовати нормалну функцију проапоптотичких протеина BAX и BAK, док, са друге стране, мутација BAX или BAK гена узрокује регулацију на доле њихове експресије, тако да ћелија и у овом случају губи способност регулације апоптозе и то поново узрокује туморогенезу.

Међутим, и интензивирање процеса апоптозе такође узрокује болести каква су аутоимуне и неуродегенеративне болести, као и оболења повезана са исхемијом. Тако синдром имуне дефицијенције (AIDS) је пример аутоимуне болести која настаје као последица инфекције вирусом хумане имуне дефицијенције (ХИВ) (Li et al., 1995). Овај вирус инфицира CD4+ Т лимфоците везивањем за његове CD4 рецепторе и унутар ове ћелије ХИВ Тат протеин повећава експресију Fas рецептора што резултира апоптозом Т лимфоцита.

ЗАКЉУЧАК

Постоје два основна начина ћелијске смрти који су означени као: а) некроза и б) апоптоза. Некроза настаје као последица физико-хемијског стреса и то најчешће услед прекида дотока крви или услед излагања ћелије токсинима, а карактерише се бубрењем ћелије и денатурацијом и деструкцијом интрацелуларних протеина. Апоптоза је, међутим, прецизно регулисан процес програмиране ћелијске смрти. Она се карактерише специфичним морфолошким и биохемијским променама у којим активација каспаза има кључну улогу. Премда су већ идентификовани многи кључни протеини који активирају или инхибирају апоптозу, молекуларни механизам активације ових протеина још увек није у потпуности јасан и налази се у фокусу савремених истраживања. Важност разумевања овог феномена лежи у чињеници да је ова форма

ћелиске смрти заступљена како у нормалној ткивној физиологији тако и у развоју многих болести. Поред тога, разумевање процеса апоптозе је од значаја јер води ка развоју медикаментозне терапије која може активирати или инхибирати овај облик ћелијске смрти. Откриће лекова који поспешују апоптозу могу амплифицирати позитивне ефекте хемотерапеутских агенаса на ћелије резистентне на апоптозу. Тако, нпр. за разлику од досадашње антиканцерогенне терапије која је имала за циљ некрозу туморских ћелија, најновија медикаментозна терапија је окренута ка стимулацији апоптозе ових ћелија.

ЛИТЕРАТУРА

1. Artal-Sanz, M., N. Tavernarakis (2006): Proteolytic mechanisms in necrotic cell death and neurodegeneration. Minireview. *FEBS Letters* 579: 3287–3296.
2. Ashkenazi, A, V.M. Dixit (1998): Death receptors: signaling and modulation. *Science* 281:1305–8.
3. Bratton, D.L., V.A. Fadok, D.A. Richter, J.M. Kailey, L.A. Guthrie, P.M. Henson (1997): Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase. *J Biol Chem* 272:26159–65.
4. Chinnaiyan, A.M. (1999): The apoptosome: heart and soul of the cell death machine. *Neoplasia* 1:5–15.
5. Cohen, G.M. (1997): Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J* 326(Pt 1):1–16.
6. Cory, S, J.M. Adams (2002): The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2:647–56.
7. Du, C.M., Fang M., Y. Li, L. Li, X. Wang (2002): Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome *c*-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 102:33–42.
8. Fadok, V.A., A. de Cathelineau, D.L. Daleke, P.M. Henson, D. L. Bratton (2001): Loss of phospholipid asymmetry and surface exposure of phosphatidylserine is required for phagocytosis of apoptotic cells by macrophages and fibroblasts. *J Biol Chem* 276:1071–1077.
9. Fan, Z, P.J. Beresford, D.Y. Oh, D. Zhang, J. Lieberman (2003): Tumor suppressor NM23-H1 is a granzyme A-activated DNase during CTL- mediated apoptosis, and the nucleosome assembly protein SET is its inhibitor. *Cell* 112:659–72.
10. Festjens N., T. Vanden Berghen, P. Vandenabeele (2006): *Biochim Biophys Acta*.1757(9-10):1371-1387.
11. Golstein, P., G. Kroemer (2007): Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends Biochem Sci*.32(1):37-43.
12. Garrido, C, L. Galluzzi, M. Brunet, P.G. Puig, C. Didelot, G. Kroemer (2006): Mechanisms of cytochrome *c* release from mitochondria. *Cell Death Differ*. 13:1423–33.
13. Hill, M.M., C. Adrain, P.J. Duriez, E.M. Creagh, S.J. Martin (2004): Analysis of the composition, assembly kinetics and activity of native Apaf-1 apoptosomes. *Embo J*. 23:2134–45.
14. Igney, F.H., P.H. Krammer (2002): Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer*. 2:277–288.
15. Joza, N., S.A. Susin, E. Daugas, W.L. Stanford, S.K. Cho, C.Y. Li, T. Sasaki, A.J. Elia, H.Y. Cheng, L. Ravagnan, K.F. Ferri, N. Zamzami, A. Wakeham, R. Hakem, T. Yoshida, Y.Y. Kong, T.W. Mak, J.C. Zuniga-Pflucker, G. Kroemer, J.M. Penninger (2001): Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature* 410:549–54.

16. Kerr, J.F., A.R. Wyllie (1972): Currie:Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239–57.
17. Kothakota S, T. Azuma, C. Reinhard, A. Klippel, J. Tang, K. Chu, T.J. McGarry, M.W. Kirschner, K. Koths, D.J. Kwiatkowski, L.T. Williams (1997): Caspase-3-generated fragment of gelsolin: effector of morphological change in apoptosis. *Science* 278:294–8.
18. Lee, J.M., G.J. Zipfel, D.W. Choi (1999): The changing landscape of ischaemic brain injury mechanisms. *Nature* 399: A7–A14.
19. Li, L.Y., X. Luo, X. Wang (2001): Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature* 412:95–99.
20. Lund L.R., J. Romer, N. Thomasset, H. Solberg, C. Pyke, M.J. Bissell, K. Dano, Z. Werb (1996): Two distinct phases of apoptosis in mammary gland involution: proteinase-independent and - dependent pathways. *Development* 122:181–93.
21. Martin, J.B. (1999): Molecular basis of the neurodegenerative disorders. *N Engl J Med* 340: 1970–1980.
22. Martin, L.J. (2001): Neuronal cell death in nervous system development, disease, and injury (Review). *Int J Mol Med* 7:455– 478.
23. Nijhawan, D., N. Honarpour, X. Wang (2000): Apoptosis in neural development and disease. *Annu Rev Neurosci* 23:73–87.
24. Norbury, C.J., I.D. Hickson (2001): Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41:367–401.
25. Opferman, J.T., S.J. Korsmeyer (2003): Apoptosis in the development and maintenance of the immune system. *Nat Immunol* 21:4752–60.
26. Ozawa, T. (1995): Mechanism of somatic mitochondrial DNA mutations associated with age and diseases. *Biochim Biophys Acta* 1271:177–89.
27. Pietenpol, J.A., Z.A. Stewart (2002): Cell cycle checkpoint signaling: cell cycle arrest versus apoptosis. *Toxicology* 181–182:475–481.
28. Rai, N.K., K. Tripathi, D. Sharma, V.K. Shukla (2005): Apoptosis: a basic physiologic process in wound healing. *Int J Low Extrem Wounds* 4:138–144.
29. Renehan, A.G., C. Booth, C.S. Potten (2001): What is apoptosis, and why is it important? *Bmj* 322:1536–1538.
30. Russell, J.H., T.J. Ley (2002): Lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol.* 20:323–370.
31. Saelens, X, N. Festjens, L. Vande Walle, M. van Gurp, G. van Loo, P. Vandenabeele (2004): Toxic proteins released from mitochondria in cell death. *Oncogene* 23:2861–2874.
32. Sakahira, H., M. Enari, S. Nagata (1998): Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature* 391:96–99.
33. Schimmer, A.D. (2004): Inhibitor of apoptosis proteins: translating basic knowledge into clinical practice. *Cancer Res* 64:7183–7190.
34. Schuler, M., D.R. Green (2001) : Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochem Soc Trans* 29:684–688.
35. Slee, E.A., C. Adrain, S.J. Martin (2001): Executioner caspase-3,-6, and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis. *J Biol Chem* 276:7320–7326.
36. Tilly, J.L., K.I. Kowalski, A.L. Johnson, A.J. Hsueh (1991): Involvement of apoptosis in ovarian follicular atresia and postovulatory regression. *Endocrinology.* 129:2799–2801.
37. Taylor, J.P., J. Hardy, K.H. Fischbeck (2002): Toxic proteins in neurodegenerative disease. *Science* 296: 1991–1995.
38. Trapani JA, M.J. Smyth (2002): Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat Rev Immunol* 2:735–747.

39. Vanlangenakker N., T. Vanden Berghen, N. Krysko, N.P. Festjens, P. Vandenabeele (2008): Molecular mechanisms and pathophysiology of necrotic cell death. *Curr Mol Med.* 8(3):207-220.
40. Wang, X.W., C.C. Harris (1997): *p53* tumor-suppressor gene: clues to molecular carcinogenesis. *J Cell Physiol* 173:247–255.
41. Yuan, J., M. Lipinski, A. Degterev (2003): Diversity in the mechanisms of neuronal cell death. *Neuron* 40: 401–413.
42. Zong W.X., C.B. Thomson (2006) : Necrotic death as a cell fate. *Genes Dev* 20(1):1-15.

Примљено: 29. 12. 2010.

Одобрено: 12. 07. 2011.