

POCHODZENIE I EWOLUCJA ŚMIERCI KOMÓRKI

THE ORIGIN AND EVOLUTION OF CELL DEATH

Michalina MARUNIEWICZ*, Przemysław WOJTASZEK

Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej,
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań

Streszczenie: Śmierć komórki jest regulowanym genetycznie procesem występującym powszechnie w świecie żywym. Przez dziesiątki lat uznawano, że śmierć komórki jest zjawiskiem typowym wyłącznie dla organizmów wielokomórkowych, a więc i dość młodym ewolucyjnie. Tymczasem w ostatnich latach genetycznie regulowaną śmierć komórek udokumentowano u wielu organizmów jednokomórkowych zarówno eukariotycznych, jak i prokariotycznych. Dane te sugerują więc, że śmierć komórek jest procesem, który towarzyszy życiu od samego początku. W artykule porównano wybrane przykłady śmierci komórek u różnych grup organizmów. Na tej podstawie przedstawiono przegląd hipotez dotyczących powstania i ewolucji procesu programowanej śmierci komórki. Wskazano również możliwe drogi wykształcania się różnych mechanizmów śmierci komórek.

Słowa kluczowe: Eukaryota, ewolucja, organizmy jednokomórkowe, organizmy wielokomórkowe, Prokaryota, śmierć komórki (pochodzenie).

Summary: Cell death is a genetically regulated process occurring commonly in nature. For decades cell death was considered to be typical only for multicellular organisms and, consequently, relatively young in evolutionary terms. However, genetically regulated cell death has recently been documented in many unicellular organisms, both eukaryotic and prokaryotic. These data suggest that cell death might be an old process accompanying life since its beginning. In this paper, examples of cell death processes in different organisms are compared. On that basis an overview of hypotheses on origin and evolution of cell death is presented. Possible ways for the emergence of different cell death mechanisms are also discussed.

Key words: cell death (origin), Eukaryotes, evolution, multicellular organisms, Prokaryotes, unicellular organisms.

Pierwsze obserwacje umierających komórek bezkręgowców i kręgowców pojawiły się w XIX wieku, a systematyczne badania tego zjawiska rozpoczęły się w latach 50. XX w. Kiedy w 1972 r. Kerr, Wyllie i Currie [40] zdefiniowali fenotypowe

*Autorka jest studentką II roku studiów magisterskich na kierunku biotechnologia Wydziału Biologii UAM.

kryteria apoptozy wydawało się, że zostały stworzone solidne podstawy do badań ściśle określonego procesu. Późniejsze analizy szczegółowe oraz badania śmierci komórek organizmów z innych grup systematycznych, takich jak grzyby i rośliny, wykazały jednak, że komórki mogą umierać na wiele różnych sposobów. Tym niemniej powszechnie przyjmowano, że programowana śmierć komórki – PCD (ang. *programmed cell death*) jest fenomenem występującym wyłącznie w świecie organizmów wielokomórkowych (przegląd w np. [10, 15, 22, 31, 34, 47, 59, 65]; w piśmiennictwie polskim patrz np. [71, 75]). Jednak w latach 90. XX w. pojawiły się pierwsze prace sugerujące, że podobne zjawisko może mieć miejsce tak u eukariontów jednokomórkowych, jak i u prokariotów. Otwiera to fascynującą perspektywę badań nad źródłami śmierci komórki. W niniejszej pracy postaramy się pokazać podejmowane próby odpowiedzi na dwa zasadnicze pytania: 1) jakie jest pochodzenie śmierci komórki i 2) dlaczego powstało i jak wyewoluowało wiele mechanizmów śmierci?

ŚMIERĆ KOMÓRKI – DEFINICJE

Mimo upływu wielu dziesięcioleci badań, śmierć komórki oraz drogi wiodące do niej nie doczekały się wystarczająco jasnych i precyzyjnych definicji. Śmierć jest bowiem procesem rozgrywającym się na poziomie komórkowym, do którego przyczyniać może się wiele mechanizmów molekularnych. Stąd też nadal najlepszymi kryteriami opisu różnych form śmierci wydają się kryteria morfologiczne, oparte na obserwacjach mikroskopowych. Podejmowane od czasu do czasu próby kodyfikacji dostępnych danych, także te najnowsze [43, 65] jedynie porządkują sytuację.

Ponieważ komórki mogą umierać na wiele różnych sposobów, należy odróżnić **umieranie** jako proces od **śmierci** jako punktu końcowego tego procesu. W procesie umierania komórki można wyodrębnić trzy kolejne etapy:

- 1) sygnalizacyjny, w którym następuje odebranie i przekształcenie docierających sygnałów wewnętrznych i zewnętrznych;

- 2) egzekutorowy, gdy uruchomiona maszyna biochemiczna prowadzi komórkę do śmierci oraz

- 3) oczyszczający, kiedy następuje usunięcie pozostałości komórki z organizmu w trakcie lub po jej śmierci [29, 71].

O ile etap pierwszy jest we wszystkich przypadkach elementem niezbędnym, o tyle dwa pozostałe nie muszą już spełniać wymogu natychmiastowej i bezwzględnej wykonalności. Dzięki temu staje się możliwe odróżnienie **komórki umierającej**, ale **żywej** od **komórki martwej**. Ma to duże znaczenie w przypadku np. komórek martwych, które dopiero po śmierci stają się komórkami ważnymi funkcjonalnie dla organizmu, takich jak keratynocyty u ssaków czy człony naczyń u roślin kwiatowych, bądź też komórek, u których proces umierania jest rozciągnięty w czasie, np. kilku tygodni lub miesięcy w starzejących się liściach drzew czy też nawet kilku lat, jak

w komórkach endospermu zbóż, gdy komórki umierające w trakcie formowania nasion są degradowane dopiero podczas kiełkowania [65].

Wyróżnia się trzy główne typy śmierci komórki. **Nekrozę** definiuje się jako katastrofę bioenergetyczną, wynikającą z wyczerpania zasobów ATP (i, prawdopodobnie, NAD^+), której przejawami morfologicznymi są: pęcznienie komórki i jej organelli, przerwanie ciągłości błony komórkowej oraz zmiany w organizacji jądra i chromatyny [22, 29, 43]. Przeciwstawia się ją zwykle pozostałym dwóm typom śmierci komórki jako śmierć pasywną, wywołaną przypadkowymi czynnikami zewnętrznymi, np. toksynami czy zniszczeniem fizycznym. **Apoptozę** uznaje się za aktywną formę śmierci wymagającą dostarczenia ATP. Jej definicja nie zmieniła się znacząco od 1972 r. [40]. Nadal definiowana jest ze względu na przejawy morfologiczne procesu, takie jak: obkurczenie komórki, kondensacja i marginalizacja chromatyny, fragmentacja DNA, utrzymywanie integralności błony komórkowej do późnych faz procesu czy wreszcie formowanie ciałek apoptotycznych, wchłanianych następnie przez komórki sąsiednie lub wyspecjalizowane komórki żerne [32]. Ze względu na tę ostatnią cechę uznaje się, że apoptotyczna śmierć komórki nie ma miejsca u organizmów, których komórki otoczone są ścianą komórkową, czyli u roślin i grzybów [65]. U podłoża apoptozy może leżeć kilka różnych mechanizmów, stąd też *Nomenclature Committee on Cell Death* (NCCD) sugeruje na przykład, by analizy fragmentacji DNA czy aktywacji kaspaz uznawać za narzędzia diagnozy, lecz nie definicji apoptozy [43]. Komórki mogą również umierać w drodze **autofagii**. Autofagiczna śmierć komórki charakteryzuje się intensywnym nagromadzeniem autofagosomów i dalej wakuolizacją cytoplazmy, którym nie towarzyszą uporządkowane zmiany w organizacji chromatyny. W wyniku autofagii może dochodzić do eliminacji całych skupisk komórkowych. Autofagię zaobserwowano początkowo u drożdży, a następnie udokumentowano przede wszystkim u roślin kwiatowych. Ten typ śmierci komórki wzbudza obecnie najwięcej dyskusji, zwłaszcza w odniesieniu do śmierci komórek zwierzęcych [41]. Zwraca się uwagę przede wszystkim na to, że autofagia jest procesem o dwojakim przeznaczeniu: 1) narzędzia umożliwiającego przetrwanie komórek w okresach niedoboru składników pokarmowych lub 2) narzędzia rozkładu składników komórki przed śmiercią [10, 22]. Stąd też sugeruje się, by używać określeń typu **śmierć komórki z autofagią**, które nie przesadzają samego mechanizmu, a jedynie zawierają opis morfologii śmierci [43]. W odniesieniu do komórek roślinnych proponuje się również uszczegółowienie określenia autofagia ze względu na zakres zmian zachodzących w komórce [65].

Odrębnego komentarza wymaga termin **programowana śmierć komórki** (PCD). Wprowadzono go, aby podkreślić, że jest to śmierć komórki regulowana genetycznie. Dalszą konotacją stało się odniesienie terminu PCD głównie do procesów rozwojowych oraz do obrony organizmu przed infekcją patogenną. Tu chcemy zwrócić uwagę, że PCD jest terminem znacznie szerszym niż apoptoza czy autofagia. Z drugiej strony, zgodnie z sugestią NCCD, wskazujemy również, że określenie PCD nie jest bezwzględnie uniwersalne i w niektórych sytuacjach doświadczalnych może okazać się mylące [43].

POCHODZENIE ŚMIERCI KOMÓRKI – EUKARIONTY WIELOKOMÓRKOWE

Konsekwencją panującego powszechnie przekonania, że śmierć komórki jest cechą organizmów wielokomórkowych, było również przeświadczenie, że PCD pojawiła się dość późno w ewolucji, wraz z powstaniem złożonych form życia. Tymczasem obserwacje nagromadzone w ostatnich kilkunastu latach, a dotyczące jednokomórkowych eukariontów oraz organizmów prokariotycznych, zdają się wskazywać na bardzo stare, sięgające początków życia komórkowego, korzenie zjawiska śmierci komórki [75].

Śmierć komórki u *Metazoa*

Pierwsze obserwacje śmierci komórek pojawiły się w trakcie badań rozwoju embrionalnego zwierząt. Początkowo definiowano PCD jako śmierć określonej komórki w określonym miejscu i czasie. Przyczyniły się do tego zwłaszcza analizy rozwoju embrionalnego *Caenorhabditis elegans*, w trakcie których zaobserwowano, że pewna stała liczba komórek ulega degradacji w sposób wskazujący na istnienie podłoża genetycznego tego zjawiska [23]. Dalsze badania prowadzone na przedstawicielach odległych filogenetycznie rodzin wskazały, że proces eliminacji komórek w trakcie rozwoju embrionalnego, a także późniejszego rozwoju osobniczego jest zjawiskiem powszechnym i jest regulowany genetycznie. Dotyczy on formowania struktur, np. paliczków dłoni i stóp u ssaków, usuwania struktur, np. ogona kijanek żab, a zwłaszcza przemodelowania ciała w trakcie metamorfozy u owadów. W ten sposób kontrolowana jest liczba i jakość komórek organizmu, usuwane są komórki będące w nadmiarze, np. w trakcie rozwoju układu nerwowego oraz komórki zagrażające funkcjonowaniu organizmu, np. w wyniku nagromadzenia mutacji lub z uszkodzonym materiałem genetycznym [10]. Wreszcie, w procesie programowanej śmierci zamierają komórki zainfekowane, co może być traktowane jako pierwotna forma reakcji obronnych organizmów wielokomórkowych [36, 69].

Zjawisko śmierci komórki zostało udokumentowane u wszystkich badanych grup zwierząt: *Porifera*, *Cnidaria*, *Nematoda*, *Insecta*, *Amphibia*, *Pisces*, *Aves* i *Mammalia* [3, 68]. Obserwowane podobieństwo PCD u tych grup dotyczy nie tylko samej obecności śmierci komórki, ale również pewnych objawów fenotypowych, mechanizmów kontrolnych, a także podłoża molekularnego procesu. Badania na mutantach *C. elegans* wskazały, że kluczową rolę w śmierci komórki odgrywają produkty czterech genów. Białko Ced-3 należy do rodziny proteaz cysteinowych – kaspaz i jest produkowane jako nieaktywny prekursor. Ced-4 jest białkiem adapterowym, a jego przyłączenie się do Ced-3 indukuje cięcie autokatalityczne i aktywację kaspazy. Białko Ced-9 jest represorem, który przez wiązanie z Ced-4 uniemożliwia aktywację kaspaz. Wreszcie, produkt genu *Egl-1* wiąże się z Ced-9 blokując jego funkcję represorową. W ostatnich latach, dzięki badaniom porównawczym genomów, zidentyfikowano liczne homologi genów *C. elegans* m.in. u

Drosophila melanogaster, myszy i człowieka. Wykazano nie tylko wspólne pochodzenie tych genów, ale także wielką różnorodność ich produktów w obrębie grup filogenetycznych [4, 7, 8, 14]. Należy jednak zaznaczyć, że śmierć komórek zwierząt może mieć wiele różnych postaci, u podłoża których mogą leżeć pewne swoiste mechanizmy, i ów prosty mechanizm kontrolny regulacji śmierci komórki u *C. elegans* nie musi już mieć, i zwykle nie ma, takiej postaci u innych organizmów. Znanych jest wiele przykładów śmierci komórek niezależnej od aktywacji kaspaz [32] bądź, z drugiej strony, udziału typowych białek śmierci w innych procesach życiowych komórki [74].

Śmierć komórki u roślin kwiatowych

Problem występowania programowanej śmierci komórki u roślin był przez wiele lat zaniewany i dopiero w ostatnich latach uznano PCD za nieodłączny element procesów wzrostu i rozwoju rośliny, a także za jeden z istotnych składników odpowiedzi roślin na atak patogenu [11, 39, 71, 75]. To opóźnienie sprawiło jednak, że przez długi czas badania koncentrowały się na poszukiwaniu objawów śmierci identycznych z tymi, które znane były dla komórek zwierząt, a nie na charakteryzowaniu cech swoistych dla roślin. Wspomniane już dyskusje nad występowaniem autofagii w komórkach zwierząt jeszcze bardziej zaciemniały obraz. Dopiero niedawno osiągnięto, jak się wydaje, porozumienie i uznano, że śmierć komórek roślinnych nie wykazuje przejawów typowych dla apoptozy komórek zwierzęcych, natomiast najczęściej daje się ją opisać jako śmierć komórki z autofagią [65]. Główną przyczyną jest, w większości przypadków, brak fazy trzeciej śmierci komórki, czyli usunięcia jej pozostałości z organizmu, a to za sprawą otoczenia protoplastów roślinnych przez ściany komórkowe. Jedynie w nielicznych przypadkach dochodzi do strawienia również i ścian komórki. Tak więc, martwe komórki pozostają na miejscu, pełniąc niezwykle ważne funkcje, np. szkieletu roślinnego czy też tkanki przewodzącej wodę [33, 45]. PCD spełnia u roślin podobne funkcje jak u zwierząt:

- 1) usuwane są struktury, które wypełniły swoje funkcje, np. komórki wieszadełka,
- 2) formowane są struktury, np. człony naczyń, aerenchyma, czy niektóre typy liści (*Monstera*),
- 3) zamierające komórki pełnią funkcje ochronne, np. komórki czapeczki korzenia.

Również starzenie i opadanie liści przebiega szlakiem programowanej śmierci. Wreszcie komórki roślinne porażone przez patogena, a często i komórki sąsiadujące zamierają w wyniku PCD określanej jako reakcja nadwrażliwości –HR (ang. *Hypersensitive Response*). Dzięki temu nie dochodzi do rozprzestrzeniania się infekcji, co zwiększa szansę przetrwania organizmu [39].

Mimo oczywistych różnic, widoczne są także pewne podobieństwa PCD roślin i zwierząt wielokomórkowych tak fenotypowe, jak i biochemiczne czy molekularne [38]. Programowaną śmierć komórek roślin mogą zatem wywoływać czynniki zewnętrzne, np. niekorzystne warunki środowiska, jak i wewnętrzne, np. hormony oraz inne związki sygnałowe, przede wszystkim kwas salicylowy, kwas jasmonowy, etylen, ABA, kwas giberelinowy oraz jony Ca^{2+} [33, 47]. Zaobserwowano również,

że znacząca część szlaków sygnałowych aktywuje PCD poprzez podwyższenie poziomu reaktywnych form tlenu – ROS (ang. *Reactive Oxygen Species*) w komórce [35]. Często obserwuje się fragmentację chromatyny i degradację jądra oraz zwiększoną aktywność proteaz cysteinowych. Co ciekawe, mimo licznych poszukiwań odpowiedników kaspaz, jak dotąd nie wykryto takich białek. U roślin i grzybów, a także u pierwotniaków stwierdzono jednak obecność metakaspaz – białek, które zdają się tworzyć z kaspazami zwierzęcymi wspólną nadrodzinę białek [47, 57, 60, 63]. Znaczące wydają się również obserwacje wskazujące, że ekspresja genów typowych dla PCD zwierząt w liniach transgenicznym roślin zaburza przebieg śmierci komórki (patrz np. [20, 46]).

Ewolucyjne źródła śmierci u organizmów wielokomórkowych

Jedną z konsekwencji teorii komórkowej jest spojrzenie na organizm wielokomórkowy jako na swoistą społeczność komórek, wyodrębnioną z otoczenia i ściśle zależną od wyspecjalizowania, umiejscowienia, zróżnicowanych form aktywności i wzajemnych oddziaływań między poszczególnymi jej składowymi. Społeczność, której liczebność jest również precyzyjnie regulowana. Takie spojrzenie zaowocowało koncepcją **kontroli społecznej**. Jednym z przejawów owej kontroli jest wymiana sygnałów między komórkami, w tym sygnałów podtrzymujących życie komórek. W skrajnej postaci koncepcja kontroli społecznej sprowadza się więc do stwierdzenia, że każda komórka może przeżyć tak długo, jak długo docierają do niej sygnały powstrzymujące działania programu autodestrukcji, który jest programem podstawowym [58]. W takim układzie życie jest ciągłym powstrzymywaniem śmierci, a śmierć komórki jest trwale wpisana w funkcjonowanie organizmu. Wystarczy więc pozbawić komórkę sygnałów podtrzymujących życie i uruchomione zostaną programy eliminujące. Z drugiej strony, spojrzenie bardziej antropomorficzne wskazuje pewien rodzaj **altruizmu** w śmierci komórki – zamiera ona wtedy, gdy jest to konieczne z punktu widzenia społeczności komórek jako całości. Czy takie spojrzenie jest w pełni uzasadnione? Wydaje się, że raczej nie. Spoglądając na mechanizmy molekularne śmierci komórki trzeba by bowiem przyjąć, że wraz z pojawieniem się organizmów wielokomórkowych pojawił się również cały zestaw genów śmierci. Tymczasem, obecnie obserwowana funkcja danego procesu jest sumą drobnych zmian przystosowawczych, których pierwotnego znaczenia często nie jesteśmy w stanie odgadnąć. Co więcej, przyjęcie założenia, że program śmierci jest programem podstawowym wyklucza również możliwość występowania tego procesu u organizmów jednokomórkowych. Jeżeli bowiem PCD jest procesem polegającym na unicestwieniu komórki niosącej program genetyczny tegoż procesu, to u organizmów jednokomórkowych śmierć w wyniku realizacji programu prowadziłyby jednocześnie do eliminacji genomu go niosącego [4].

Innym spojrzeniem na pochodzenie procesu śmierci komórki jest potraktowanie PCD jako formy pierwotnej odporności organizmów wielokomórkowych [69]. Występowanie PCD jako odpowiedzi na atak patogenu u roślin, owadów i ssaków zdaje się tę tezę potwierdzać [4]. Komórka zakażona może stać się źródłem infekcji

zagrożącej całemu organizmowi. Uruchamiając gwałtowny program śmierci zatrzymuje reprodukcję patogenu i zapobiega dalszemu rozprzestrzenianiu się zakażenia [36]. Z drugiej strony, mikroorganizmy patogenne dostosowują stale swoje strategie przeżywania, a jedną z dróg jest wykształcanie mechanizmów hamujących proces gwałtownej śmierci gospodarza, np. wytwarzanie białek naśladujących funkcjonalnie Bcl-2 [4, 6, 7]. Te obserwacje pozwalają przypuszczać, że pierwotnie programowana śmierć komórki była efektem koewolucji gospodarza i patogenu, a dopiero później, poprzez włączenie dodatkowych mechanizmów regulatorowych, została wykorzystana jako sposób na kontrolę liczebności i jakości komórek organizmu wielokomórkowego.

POCHODZENIE ŚMIERCI KOMÓRKI – EUKARIONTY JEDNOKOMÓRKOWE

Śmierć komórki wśród heterotrofów jednokomórkowych

W ostatnich latach pojawiły się prace wskazujące, że śmierć komórki, zapewne o podłożu genetycznym, ma miejsce również u jednokomórkowców [75]. Do chwili obecnej zebrane dane dotyczą co najmniej kilkunastu gatunków organizmów jednokomórkowych. Co więcej, w przebadanych przypadkach często stwierdza się, że śmierć komórki wykazuje wiele cech uznawanych za typowe m.in. dla apoptozy [4]. Na przykład, zastosowanie leków przeciwko pasożytniczej *Leishmania donovani* indukowało kondensację chromatyny, fragmentację DNA (pozytywny wynik testu TUNEL), zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej oraz zaburzenia potencjału błony mitochondrialnej. Pośrednio wykazano także obecność proteaz cysteinowych [48]. Przypadki śmierci komórki opisano także u *Trypanosoma cruzi* [5], *T. brucei rhodesiense* [67], *L. amazonensis* [54], *L. major* [9], *Tetrahymena thermophila* [18], *Peridinium gatunense* [66], *Dictyostelium discoideum* [19] oraz u *Plasmodium falciparum* [2]. Śmierć komórki jest tu warunkowana czynnikami zewnętrznymi, np. sygnałami od innych komórek w obrębie kolonii – *T. cruzi* i *T. thermophila*, warunkami pokarmowymi – *D. discoideum* czy nawet w przypadku pasożytniczej *L. amazonensis* – sygnałami od gospodarza. Warto zaznaczyć, że każdy z procesów śmierci komórki, mimo że uznawany za formę PCD, podlega regulacji swoistej dla gatunku. Co więcej, są przesłanki by sądzić, że śmierć komórki dotyczy również wyspecjalizowanych pierwotniaków pozbawionych mitochondriów, takich jak *Trichomonas vaginalis* czy *Giardia intestinalis* (przegląd w [17]).

Śmierć komórki, często o cechach zbliżonych do apoptozy [51], ma miejsce również u drożdży *Saccharomyces cerevisiae* czy *Schizosaccharomyces pombe*. Obserwuje się ją, gdy drożdże znajdują się w warunkach ograniczonych zasobów pokarmowych, w przypadku niemożności znalezienia partnera do rozmnażania płciowego, czy też w reakcji na toksyny wytwarzane przez inne szczepy grzybów (przegląd w [16, 30]). Mimo wielu analiz genomicznych nie potwierdzono jak dotąd

obecności genów kodujących białka podobne do białek z rodziny Bcl-2/Bax w żadnym organizmie jednokomórkowym [4]. Jednak u obu gatunków drożdży ekspresja genów kodujących składniki szlaków apoptotycznych, pochodzących z organizmów wielokomórkowych, prowadziła do śmierci komórki. Wykorzystano m.in. geny kodujące Bax, kaspazy, p53, CED-4/Apaf-1 (przegląd w [27]). Co ciekawe, nadekspresja ludzkiego białka Bcl-2 prowadzi do przedłużenia czasu życia komórek drożdży [50]. Późniejsze prace doprowadziły do wykrycia drożdżowych odpowiedników białek regulujących apoptozę u wyższych eukariontów, takich jak: metakaspaza Yca 1p/Mca 1p [52] czy też czynnik indukujący apoptozę Aif 1p [70].

Śmierć komórki u autotrofów jednokomórkowych

Szczególnym przypadkiem, przynajmniej ze względu na charakter śmierci komórki, wydają się być jednokomórkowe eukarionty autotroficzne. Śmierć komórki wykryto u zielenicy *Dunaliella tertiolecta* w populacjach planktonowych. W warunkach naturalnych do masowej autolizy komórek dochodzi po zakwicie, a więc w sytuacji pogorszenia warunków wzrostu. W warunkach *in vitro* populacje *Dunaliella* przeżywały bez większych zmian liczebności warunki głodzenia azotowego, natomiast do gwałtownej śmierci komórek dochodziło przy przedłużającym się braku światła [12]. Śmierć ta charakteryzowała się przejawami morfologicznymi typowymi dla apoptozy; zidentyfikowano również aktywność proteolityczną typową dla kaspaz. Ta ostatnia obserwacja stała się podstawą sugestii, że przynajmniej niektóre elementy maszyneryi śmierci pojawiły się w komórkach jeszcze przed pojawieniem się organizmów wielokomórkowych [61].

Heterotrofy i autotrofy – ograniczenia koncepcji altruistycznej

Porównanie obu grup organizmów eukariotycznych wskazuje na pewne interesujące prawidłowości. Organizmy heterotroficzne zdolne są do pobierania i wykorzystywania organicznych źródeł węgla i azotu z otoczenia. Znaczna ich część, np. *Dictyostelium* czy drożdże, żyje w koloniach, gdzie organizmy są na ogół blisko spokrewnione lub wręcz są klonami niosącymi ten sam materiał genetyczny. W takich sytuacjach PCD może pełnić rolę swoistej **kontroli populacyjnej**. W środowisku bogatym w substancje pokarmowe pojedyncze ameboidalne komórki *Dictyostelium* żerują indywidualnie. Przy przekroczeniu pewnej granicznej gęstości populacji, co zwykle oznacza również wyczerpanie składników pokarmowych, komórki łączą się tworząc pseudoplazmodium i dalej owocnik. W nim część komórek ulega programowanej śmierci, część natomiast różnicuje się w spory. Gdy warunki ulegną poprawie, spory odtwarzają kolonię [19]. Podobnie, u drożdży kolonie wywodzą się zwykle z pojedynczej komórki. Po wielu kolejnych podziałach komórkowych tworzy się ustrukturalizowana kolonia, z młodymi komórkami na zewnątrz i strefą dojrzałych, starzejących się i zamierających w procesie PCD komórek w środku kolonii [64]. W obu przypadkach, śmierć komórek ma wartość przystosowawczą dla kolonii jako całości. Z kolei *Dunaliella* jest obligatoryjnym fotoautotrofem. W tym przypadku, żaden organizm nie jest w stanie wykorzystać substancji organicznych uwolnionych

w wyniku śmierci sąsiadujących komórek. Stąd „altruistyczna” wizja śmierci komórki zdaje się nie mieć w tym przypadku potwierdzenia. Czemu więc występuje? Autorzy pracy [61] spekulują, że początkowo kaspazy były proteazami zaangażowanymi w normalne procesy wzrostu i rozwoju, które w szczególnych warunkach, np. braku światła, mogły ulegać niekontrolowanej aktywacji. Ich swoista aktywność sprawia zaś, że objawy śmierci są tak znacząco podobne do apoptozy.

POCHODZENIE ŚMIERCI KOMÓRKI – PROKARIONTY

Śmierć komórek prokariotycznych opisywano od dziesiątków lat, jednakże dopiero w ostatnich latach podjęto próby interpretacji niektórych przynajmniej procesów jako zbliżonych do PCD. Podobnie jak u jednokomórkowych eukariontów, również u niektórych bakterii niekorzystne warunki środowiska mogą aktywować śmierć komórki, której efektem będzie liza i uwolnienie zawartości do otoczenia. Co ciekawe, sygnały środowiskowe nie są tu czynnikiem wystarczającym, gdyż zwykle konieczna jest również wymiana sygnałów między komórkami, związana z funkcjonowaniem mechanizmu „*quorum sensing*” [73]. Bakterie z grupy *Streptomyces* czy *Myxobacteria* w odpowiedzi na zmianę warunków środowiska tworzą zróżnicowane pod względem kształtu struktury, składające się z komórek martwych oraz spor przetrwalnikowych [53, 72]. Sporulacja jest również stałym elementem cyklu życiowego *Bacillus subtilis* czy *Caulobacter crescentus*. W wyniku podziału asymetrycznego powstaje duża komórka wegetatywna oraz połączona z nią pre-spora. Po przekształceniu pre-spory w dojrzałą sporę komórka wegetatywna zamiera. Szlak, którym będą różnicować się obie komórki, zależy od zróżnicowania stężeń regulatorów ekspresji i aktywności różnych czynników transkrypcyjnych w obu komórkach [24]. Mimo że nie wszystkie gatunki bakterii tworzą spory, proces różnicowania uzyskany dzięki złamaniu symetrii podziału może być kluczowy dla przetrwania kolonii jako całości [49, 59]. Wreszcie, proces regulowanej śmierci komórki obserwowano również u sinic, np. z rodzaju *Anabaena*. Co ciekawe, w tym przypadku udało się zanalizować morfologię procesu, która bardzo przypominała objawy śmierci komórki z autofagią, typowe dla komórek roślinnych [55].

Z uwagi na brak wyodrębnionego jądra komórkowego u prokariotów, apoptotyczny model programowanej śmierci komórki zdaje się być ograniczony jedynie do przedstawicieli *Eukaryota*. Należy jednak wziąć pod uwagę, że apoptoza, której markerem morfologicznym jest stan jądra komórkowego, jest tylko jedną z możliwych manifestacji śmierci komórki. Jeżeli u podłoża śmierci komórki zostaną zidentyfikowane białka podobne strukturalnie lub funkcjonalnie, wówczas można będzie uznać, że ma ona charakter śmierci aktywnej i kontrolowanej, podobnej do PCD. Analizy porównawcze stały się możliwe w ostatnich latach, gdy udostępniono wyniki sekwencjonowania genomów prokariotycznych i eukariotycznych. Wynika z nich, że kilka kluczowych elementów szlaków śmierci komórki u organizmów eukariotycznych, takich jak białka podobne do kaspaz, apoptotyczne AP-ATPazy, NTPazy

(głównie GTPazy) zawierające domenę NACHT, czy wreszcie proteazy podobne do mitochondrialnej HtrA, kodowanych jest również przez genomy bakterii, lecz nie archeonów [13, 42]. Na przykład, białka nadrodziny proteaz podobnych do kaspaz wykryto w genomach organizmów ze wszystkich grup filetycznych. U zwierząt występują zarówno kaspazy, jak i parakaspazy, które wykryto także u bakterii z grupy rizobiów. Natomiast metakaspazy są obecne u roślin, grzybów, pierwotniaków oraz u wielu grup bakterii. U roślin niektóre metakaspazy występują w postaci białka wielodomenowego, połączone np. z LSD1 – regulatorem PCD [21, 60, 63]. Analizy porównawcze wskazały na jedną interesującą prawidłowość: białka enzymatyczne zaangażowane w śmierć komórki mają bardzo szeroką dystrybucję i dość łatwo można zidentyfikować ich odpowiedniki u bakterii. Z kolei białka nieenzymatyczne, spełniające np. rolę organizatorów kompleksów wielobiałkowych są często charakterystyczne jedynie dla określonej linii rozwojowej i nie mają odpowiedników bakteryjnych. Interesującym wyjątkiem są białka zawierające domenę TIR (ang. *Toll-interleukin-receptor*), gdyż funkcjonalny odpowiednik tej domeny znajdujący się w białkach zwierząt i roślin oraz wielu grup bakterii [42].

KONCEPCJE POCHODZENIA ŚMIERCI KOMÓRKI

Jak się wydaje, wyniki ostatnich lat sugerują wyraźnie, że aktywna i regulowana śmierć komórki ma miejsce zarówno u organizmów eukariotycznych, jak i prokariotycznych. Problemem, który wymaga rozważenia, staje się więc: kiedy i w jaki sposób do tego doszło? Jak dotąd sformułowano kilka propozycji teoretycznych, wyjaśniających pochodzenie śmierci komórki. Najpowszechniej rozważane są trzy, niewykluczające się wzajemnie koncepcje: 1) endosymbiotyczna, 2) czynnika uzależniającego oraz 3) grzechu pierworodnego. Choć wszystkie umiejscawiają źródło śmierci komórki głęboko u podstaw drzewa życia, to odnoszą się przede wszystkim do śmierci komórki eukariotycznej. Wszystkie też, w istotnym stopniu, odnoszą się do związku śmierci komórki z mitochondriami.

Rola mitochondriów w śmierci komórki

Mitochondria pełnią kluczową rolę w indukcji, a także egzekucji śmierci komórki u wielu grup organizmów. Można je uznać za swoiste integratory sygnalizacji śmierci. Białka aktywujące apoptozę przemieszczają się z cytoplazmy lub jądra w kierunku błon mitochondriów, gdzie oddziałują z receptorami z rodziny Bcl-2/Bax. Oddziaływanie te prowadzą dalej do spadku potencjału zewnętrznej błony mitochondrialnej, co uznawane jest obecnie za cechę rozpoznawczą apoptozy, przebiegającej szlakiem zarówno zależnym, jak i niezależnym od kaspaz [44]. Redukcja potencjału błonowego prowadzi do ucieczki Ca^{2+} do cytozolu. Wzrost stężenia wolnego wapnia w cytoplazmie wymusza aktywny transport tego jonu do wnętrza mitochondriów. Ciągła ucieczka Ca^{2+} przez otwarte pory oraz konieczność transportowania go ponownie

do organelli powoduje wyczerpanie puli komórkowego ATP [25]. Mitochondria pęcznieją, dochodzi do przerwania zewnętrznej błony mitochondrialnej i uwolnienia białek przestrzeni międzybłonowej, które w istotny sposób mogą wpływać na przebieg śmierci komórki. Takie białka, jak: prokaspazy, cytochrom *c*, czy Smac/DIABLO (ang. *Second mitochondria-derived activator of caspases/Direct IAP Binding protein with LOW pI*) związane są ze szlakiem śmierci zależnym od kaspaz; endonukleaza G, czy białko AIF (ang. *Apoptosis-Inducing Factor*) sprzyjają uruchomieniu szlaku śmierci niezależnego od kaspaz [44], natomiast proteaza serynowa HtrA2 wydaje się być zdolną do aktywacji obu szlaków [62]. Powyższy model jest oparty na wynikach badań śmierci komórek zwierząt, głównie ssaków. Choć istnieją wskazówki, że mitochondria mogą być zaangażowane w PCD u roślin, to zakres ich udziału w przebiegu śmierci komórek różnych typów w odpowiedzi na różne bodźce nie został dotąd w pełni wyjaśniony (patrz np. [33, 47]).

Hipoteza endosymbiotyczna

Zgodnie z teorią endosymbiozy komórki eukariotyczne wywodzą się od beztlenowego jednokomórkowego przodka, który przechwycił bakterię z grupy α -proteobakterii, zawierającą łańcuch oddechowy umożliwiający fosforylację oksydacyjną. Uzyskał on tym samym zdolność do prowadzenia metabolizmu tlenowego.

W swej oryginalnej postaci teoria endosymbiozy nie przesądza charakteru komórki-gospodarza i przechwyconej α -proteobakterii. Poszukując źródeł śmierci komórki zwrócono uwagę na pewne, obserwowane współcześnie zależności, zwłaszcza typu patogenego. Przykładem są bakterie z rodzaju *Neisseria*, zdolne do wnिकnięcia i funkcjonowania we wnętrzu ludzkich komórek nabłonkowych czy fagocytów, lub bakterie z rodzaju *Bdellovibrio*, atakujące wiele gatunków bakterii Gram-ujemnych (przegląd w [25]). Po wnिकnięciu do komórki gospodarza bakterie te są otoczone dodatkową błoną pochodzącą od gospodarza, do której wydzielają białka podobne do poryn, działające podobnie jak mitochondrialne kanały VDAC. Zaproponowana w tym kontekście hipoteza pochodzenia endosymbiotycznego śmierci komórki uznaje komórkę eukariotyczną nie za efekt współpracy dwóch symbiontów, lecz raczej za wynik ustabilizowania początkowego konfliktu między patogenem i gospodarzem i wymuszenia współpracy między nimi [25, 42]. Zgodnie z takim modelem, poryny bakteryjne translokowane w błonę gospodarza – późniejszą zewnętrzną błonę mitochondrialną – stały się sensorem stanu metabolicznego komórki-gospodarza, gdyż fizjologiczny potencjał błonowy i odpowiednio wysokie stężenie ATP były sygnałami zamknięcia kanałów. Spadek stężenia ATP prowadził natomiast do otwarcia poryn, obniżenia potencjału błonowego i w konsekwencji do śmierci gospodarza [25]. By przeżyć, bakteria endosymbiotyczna musiała się jeszcze wydostać na zewnątrz gospodarza. Sugeruje się, że nagły wzrost stężenia Ca^{2+} w cytozolu mógł działać jako sygnał indukujący aktywację proteaz wydzielanych przez bakterię i trawiących komórkę gospodarza. Dopiero później pojawiły się białka regulatorowe, które umożliwiły komórce eukariotycznej przekształcenie procesu patogenezy w kontrolowaną śmierć komórki. To również może być przyczyną, dla której jak dotąd u organizmów

prokariotycznych nie wykryto na przykład odpowiedników białek z rodziny Bcl-2/Bax [42].

Koncepcja czynnika uzależniającego

Druga z koncepcji opisujących pochodzenie śmierci komórki wywodzi się ze stwierdzenia, że w świecie ożywionym podstawowym warunkiem przetrwania jest jak najlepsze wykorzystanie zasobów środowiska. Jedną ze strategii stosowanych przez prokarioty jest wydzielanie na zewnątrz substancji toksycznych dla innych organizmów o długim okresie półtrwania. **Toksyny (T)** te należą do białek przerywających ciągłość błony komórkowej lub enzymów niszczących DNA bakteryjne. Bakterie wydzielające toksynę są odporne na jej działanie dzięki ekspresji genów kodujących **antidotum (A)**, utrzymywane wewnątrz komórki i o krótkim okresie aktywności [4, 72].

Ponieważ, w większości przypadków, toksyna i antidotum kodowane są przez plazmidy, a nie przez chromosom bakteryjny, można takie ujęcie rozszerzyć jeszcze bardziej i uznać, że również plazmidy czy bakteriofagi dysponują własną strategią przetrwania. Można również przyjąć, że to komórki bakteryjne mogą być zasobem środowiska nadającym się do wykorzystania [37, 56]. Czynnikiem wystarczającym będzie obecność, oprócz genów koniecznych do własnej replikacji i umożliwiających szerzenie się infekcji, modułów genetycznych kodujących zarówno toksynę, jak i antidotum. Pojawienie się czynnika infekcyjnego sprawi, że bakteria zacznie wydzielać toksynę, która najpierw będzie zabijać przede wszystkim osobniki własnej kolonii. W krótkim czasie prowadzi to do efektywnego rozprzestrzenienia się czynnika infekcyjnego w populacji. Co więcej, pojawia się swoisty **stan uzależnienia** gospodarza od obecności prawidłowej formy czynnika infekcyjnego. Antidotum ma krótki czas trwania, gdyż jest degradowane we wnętrzu komórki przez proteazy serynowe, naturalnie obecne w komórce i kodowane przez chromosom bakteryjny. Warunkiem przeżycia jest więc ciągła synteza antidotum. W przypadku utraty plazmidu niosącego moduł T/A następuje zatrzymanie syntezy obu składników. Jednak różnica w okresie trwania obu elementów sprawia, że komórka ginie od zawartej w podłożu i nadal aktywnej toksyny. Podobny los czeka komórki, które nie otrzymają plazmidu podczas podziału [26, 28, 37, 72]. Integracja plazmidu lub samego modułu przetrwania T/A z genomem komórki kończy ten etap ewolucyjnego uzależnienia komórki [4].

W 1996 roku odkryto uzależniający moduł genetyczny w genomie *Escherichia coli*. Jest on złożony ze stabilnego białka MazF, pełniącego funkcję toksyny poprzez indukcję zniszczeń DNA oraz krótko żyjącego białka MazE – antidotum przeciwdziałającego toksynie. W normalnych warunkach utrzymuje się stan dynamicznej równowagi zapewniający bakterii przetrwanie. W warunkach niekorzystnych następuje zatrzymanie syntezy obu białek. Degradacja MazE prowadzi do śmierci komórki w wyniku zniszczeń DNA wywołanych przez MazF [1]. To odkrycie wskazało na kolejny możliwy krok w ewolucji śmierci komórki. Zarówno toksyna, jak i antidotum są tu białkami wewnątrzkomórkowymi, a ich ekspresja jest regulowana przez sygnały docierające do komórki. Co więcej, jest to również swoiste potwierdzenie, w

organizmie jednokomórkowym, koncepcji kontroli społecznej. Śmierć komórki następuje bowiem nie w wyniku aktywacji programu śmierci, lecz jego zahamowania przez sygnały docierające z zewnątrz. Ten stopniowy proces ewolucyjny prowadzi więc do wykształcenia śmierci komórki o cechach altruistycznych, początkowo umożliwiających przetrwanie kolonii organizmów jednokomórkowych, a później właściwe funkcjonowanie organizmu wielokomórkowego [3].

W takim kontekście warto zauważyć, że teorię czynnika uzależniającego można także odnieść do współoddziaływań między komórką eukariotyczną a mitochondrium. Można bowiem uznać, że we współczesnych komórkach mamy do czynienia z uzależnieniem obustronnym. Mitochondria uzależniają komórkę eukariotyczną, gdyż warunkują jej metabolizm tlenowy. Z drugiej strony, mitochondria, dzięki transferowi zdecydowanej większości genów do genomu jądrowego, są również związane nierozdzielnie z komórką. Istnienie komórki jako całości jest uzależnione od dobrej kondycji wszystkich przedziałów komórki. To, że regulacja śmierci komórki ma miejsce głównie na styku cytozolu i mitochondrium może być konsekwencją wcześniejszego procesu wzajemnego uzależniania. Zatem egzekucja śmierci komórki drogą mitochondrialną może być postrzegana jako usuwanie czynnika uzależniającego [4].

Hipoteza grzechu pierworodnego

Punktem wyjścia do trzeciej z hipotez stała się obserwacja, że każdy z procesów komórkowych niesie w sobie ryzyko błędu, wynikające z niedoskonałości konstrukcyjnej białek. Ten błąd z kolei może zostać zminimalizowany przez wprowadzenie dodatkowych czynników regulatorowych/naprawczych. Stąd też aktywność komórek umożliwiająca im przetrwanie w zróżnicowanych warunkach środowiska, a obejmująca wiele procesów komórkowych, obarczona jest swoistym **grzechem pierworodnym** – niemożnością zapewnienia stuprocentowej dokładności zdarzeń molekularnych, co może doprowadzić do samozniszczenia, śmierci komórki. Dotyczy to w szczególności mechanizmów związanych z funkcjonowaniem genomu. Z jednej strony konieczne jest bowiem powstrzymanie zmian genetycznych wynikających z mutacji czy z błędów replikacji. Z drugiej zaś, równie niezbędne jest dopuszczenie zróżnicowania genetycznego, którego ewolucyjnym motorem są właśnie mutacje oraz takie procesy, jak rekombinacja, koniugacja czy wreszcie rozmnażanie płciowe. Koncepcja grzechu pierworodnego (podsumowanie w [4]) uznaje, że w podobny sposób można rozpatrywać pojawienie się śmierci komórki. Tu równoległymi i pozornie przeciwnymi trendami ewolucyjnymi będą: 1) powstrzymywanie i 2) uruchamianie samozniszczenia komórki, a efektem będzie coraz bardziej wyrafinowany system regulacji procesu autodestrukcji.

Z koncepcji grzechu pierworodnego wywieść można kilka interesujących implikacji, z których najważniejszą wydaje się być konstatacja, że w komórkach nie istnieje żaden program genetyczny, którego jedynym celem działania jest uruchomienie lub powstrzymanie śmierci komórki. Tłumaczy to z jednej strony wielość postaci śmierci komórki, które są zależne od aktualnego wyposażenia i ewolucyjnej historii komórek danego gatunku. Z drugiej zaś wskazuje, że śmierć komórki jest raczej wynikiem

zróżnicowanego wykorzystania cząsteczek, które normalnie funkcjonują w najważniejszych procesach życiowych komórki. Klasycznym przykładem będzie tu cytochrom *c*. Zamknięty we wnętrzu mitochondriów odgrywa znaczącą rolę w metabolizmie, natomiast uwolniony do cytozolu staje się składnikiem apoptosomu i aktywatorem kaspaz. Podobnie, endonukleaza G, uczestnicząca normalnie w obróbce mitochondrialnego DNA, po uwolnieniu z mitochondriów staje się aktywatorem śmierci komórki niezależnej od kaspaz [4]. Można przypuszczać, że również niektóre procesy komórkowe mogą ujawniać swe drugie oblicze w zmienionych warunkach otoczenia. Przykładem może być autofagia, gdy destrukcja zawartości komórki może być wykorzystana do podtrzymania życia lub do usunięcia komórki [29].

PODSUMOWANIE

W chwili obecnej można już chyba stwierdzić, że śmierć komórki, rozumiana jako zdolność do autodestrukcji pod wpływem określonych czynników środowiskowych, jest procesem uniwersalnym w świecie ożywionym mimo obserwowanych różnic w obrazie fenotypowym, regulacji czy obecności poszczególnych elementów szlaku. Jednakże, głównie z powodu niewystarczających danych doświadczalnych, nie jest jeszcze możliwe precyzyjne określenie zależności i dróg ewolucji śmierci komórki u różnych grup organizmów. Nie ulega jednak wątpliwości, że wraz z postępem badań zmienia się także sposób myślenia o śmierci komórki. Zarysowany tutaj szereg poglądów nie jest zbiorem zamkniętym. Pojawia się bowiem co najmniej kilka pytań, których wyjaśnienie pomoże nam lepiej zrozumieć proces ewolucji życia i śmierci. W tym miejscu warto wskazać choćby dwa z nich. W jaki sposób funkcjonują procesy śmierci komórki u organizmów niezawierających mitochondriów? [17]. W jakim stopniu różnice w przebiegu śmierci komórki u organizmów z różnych grup systematycznych, np. roślin i zwierząt są efektem odrębnej historii ewolucyjnej?

LITERATURA

- [1] AIZENMAN E, ENGELBERG-KULKA H, GLASER G. An *Escherichia coli* chromosomal „addiction module“ regulated by 3',5'-bisphosphosphate: a model for programmed bacterial cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 6059–6063.
- [2] AL-OLAYAN EM, WILLIAMS GT, HURD H. Apoptosis in the malaria protozoan *Plasmodium berghei* : a possible mechanism for limiting intensity of infection in the mosquito. *Int J Parasitol* 2002; **32**: 1133–1144.
- [3] AMEISEN JC. The origin of programmed cell death. *Science* 1996; **272**: 1278–1279.
- [4] AMEISEN JC. On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years. *Cell Death Differ* 2002; **9**: 367–393.
- [5] AMEISEN JC, IDZIOREK T, BILLAUT-MULOT O, LOYENES M, TISSIER JP, QUAISSI MA. Apoptosis in a unicellular eukaryote (*Trypanosoma cruzi*): implications for the evolutionary origin and role of programmed cell death in the control of cell proliferation, differentiation and survival. *Cell Death Differ* 1995; **2**: 285–300.

- [6] AMEISEN JC, PLESKOFF O, LELIEVRE JD, DE BELS F. Subversion of cell survival and cell death: viruses as enemies, tools, teachers and allies. *Cell Death Differ* 2003; **10** (Suppl): S3–S6.
- [7] AOUACHERIA A, BRUNET F, GOUY M. Phylogenomics of life-or-death switches in multicellular animals: Bcl-2, BH3-only, and BNip families of apoptotic regulators. *Mol Biol Evol* 2005; **22**: 2395–2416.
- [8] ARAVIND L, DIXIT VM, KOONIN EV. Apoptotic molecular machinery: vastly increased complexity in vertebrates revealed by genome comparisons. *Science* 2001; **291**: 1279–1284.
- [9] ARNOULT D, AKARID K, GROODET A, PETIT PX, ESTAQUIER J, AMEISEN JC. On the evolution of programmed cell death: apoptosis of the unicellular eukaryote *Leishmania major* involves cysteine proteinase activation and mitochondrion permeabilization. *Cell Death Differ* 2002; **9**: 65–81.
- [10] BAEHRECKE EH. How death shapes life during development. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; **3**: 779–787.
- [11] BEERS EP, MCDOWELL JM. Regulation and execution of programmed cell death in response to pathogens, stress and developmental cues. *Curr Opin Plant Biol* 2001; **4**: 561–567.
- [12] BERGES JA, FALKOWSKI PG. Physiological stress and cell death in marine phytoplankton: Induction of proteases in response to nitrogen or light limitation. *Limnol Oceanogr* 1998; **43**: 129–135.
- [13] BOYCE M, DEGTREV A, YUAN J. Caspases: an ancient cellular sword of Damocles. *Cell Death Differ* 2004; **11**: 29–37.
- [14] BRIDGHAM JT, WILDER JA, HOLLOCHER H, JOHNSON AL. All in the family: evolutionary and functional relationships among cell death receptors. *Cell Death Differ* 2003; **10**: 19–25.
- [15] BURSCH W. Multiple cell death programs: Charon's lift to Hades. *FEMS Yeast Res* 2004; **5**: 101–110.
- [16] BÜTTNER S, EISENBERG T, HERKER E, CARMONA-GUTIERREZ D, KROEMER G, MADEO F. Why yeast cells can undergo apoptosis: death in times of peace, love, and war. *J Cell Biol* 2006; **175**: 521–525.
- [17] CHOSE O, SARDE C-O, GERBOD D, VISCOGLIOSI E, ROSETO A. Programmed cell death in parasitic protozoans that lack mitochondria. *Trends Parasitol* 2003; **19**: 559–564.
- [18] CHRISTENSEN ST, WHEATLEY DN, RASMUSSEN MI, RASMUSSEN L. Mechanisms controlling death, survival and proliferation in a model unicellular eukaryote *Tetrahymena thermophila*. *Cell Death Differ* 1995; **2**: 301–308.
- [19] CORNILLON S, FOA C, DAVOUST J, BUONAVISTA N, GROSS JD, GOLSTEIN P. Programmed cell death in *Dictyostelium*. *J Cell Sci* 1994; **107**: 2691–2704.
- [20] DICKMAN MB, PARK YK, OLTERSDORF T, LI W, CLEMENTE T, FRENCH R. Abrogation of disease development in plants expressing animal antiapoptotic genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 6957–6962.
- [21] DIETRICH RA, RICHBERG MH, SCHMIDT R, DEAN C, DANGL JL. A novel zinc finger protein is encoded by the *Arabidopsis* LSD1 gene and functions as a negative regulator of plant cell death. *Cell* 1997; **88**: 685–694.
- [22] EDINGER AL, THOMPSON CB. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Curr Opin Cell Biol* 2004; **16**: 663–669.
- [23] ELLIS RE, HORVITZ HR. Genetic control of programmed cell death in the nematode *C. elegans*. *Cell* 1986; **44**: 817–829.
- [24] ERRINGTON J. Determination of cell fate in *Bacillus subtilis*. *Trends Genet* 1996; **12**: 31–34.
- [25] FRADE JM, MICHAELIDIS TM. Origin of eukaryotic programmed cell death: a consequence of aerobic metabolism? *BioEssays* 1997; **19**: 827–832.
- [26] FRENCH T, GERDES K. Programmed cell death in bacteria: translational repression by mRNA end-pairing. *Mol Microbiol* 1996; **21**: 1049–1060.
- [27] FRÖHLICH K-U, MADEO F. Apoptosis in yeast – a monocellular organism exhibits altruistic behaviour. *FEBS Lett* 2000; **473**: 6–9.
- [28] GERDES K, RASMUSSEN PB, MOLIN S. Unique type of plasmid maintenance function: postsegregational killing of plasmid-free cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; **83**: 3116–3120.
- [29] GOLSTEIN P, KROEMER G. Redundant cell death mechanisms as relics and backups. *Cell Death Differ* 2005; **12**: 1490–1496.
- [30] GOURLAY CW, DU W, AYSCOUGH KR. Apoptosis in yeast – mechanisms and benefits to a unicellular organism. *Mol Microbiol* 2006; **62**: 1515–1521.
- [31] GREEN DR. Apoptotic pathways: ten minutes to dead. *Cell* 2005; **121**: 671–674.
- [32] GUIMARÃES CA, LINDEN R. Programmed cell death. Apoptosis and alternative deathstyles. *Eur J Biochem* 2004; **271**: 1638–1650.
- [33] HOEBERICHTS FA, WOLTERING EJ. Multiple mediators of plant programmed cell death: interplay of conserved cell death mechanisms and plant-specific regulators. *BioEssays* 2002; **25**: 47–57.

- [34] HUETTENBRENNER S, MAIER S, LEISSER C, POLGARD D, STRASSER S, GRUSCH M, KRUPITZA G. The evolution of cell death programs as prerequisites of multicellularity. *Mutat Res – Rev Mutat Res* 2003; **543**: 235–249.
- [35] JABS T. Reactive oxygen intermediates as mediators of programmed cell death in plants and animals. *Biochem Pharmacol* 1999; **57**: 231–245.
- [36] JAMES ER, GREEN DR. Infection and the origins of apoptosis. *Cell Death Differ* 2002; **9**: 355–357.
- [37] JENSEN RB, GERDES K. Programmed cell death in bacteria: proteic plasmid stabilization systems. *Mol Microbiol* 1995; **17**: 205–210.
- [38] JONES AM, DANGL JL. Logjam at the Styx: programmed cell death in plants. *Trends Plant Sci* 1996; **1**: 114–119.
- [39] JONES JDG, DANGL JL. The plant immune system. *Nature* 2006; **444**: 323–329.
- [40] KERR JFR, WYLLIE AH, CURRIE AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Brit J Cancer* 1972; **26**: 239–257.
- [41] KLIONSKY DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; **8**: 931–937.
- [42] KOONIN EV, ARAVIND L. Origin and evolution of eukaryotic apoptosis: the bacterial connection. *Cell Death Differ* 2002; **9**: 394–404.
- [43] KROEMER G, EL-DEIRY WS, GOLSTEIN P, PETER ME, VAUX D, VANDENABEELE P, ZHIVOTOVSKY B, BLAGOSKLONNY MV, MALORNI W, KNIGHT RA, PIACENTINI M, NAGATA S, MELINO G. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell Death Differ* 2005; **12**: 1463–1467.
- [44] KROEMER G, REED JC. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med* 2000; **6**: 513–519.
- [45] KURIYAMA H, FUKUDA H. Developmental programmed cell death in plants. *Curr Opin Plant Biol* 2002; **5**: 568–573.
- [46] LACOMME C, SANTA CRUZ S. Bax-induced cell death in tobacco is similar to the hypersensitive response. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**: 7956–7961.
- [47] LAM E. Controlled cell death, plant survival and development. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; **5**: 305–315.
- [48] LEE N, BERTHOLET S, DEBRABANT A, MULLER J, DUNCAN R, NAKHASI HL. Programmed cell death in the unicellular protozoan parasite *Leishmania*. *Cell Death Differ* 2002; **9**: 53–64.
- [49] LEWIS K. Programmed death in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; **64**: 503–514.
- [50] LONGO VD, ELLERBY LM, BREDESEN DE, VALENTINE JS, GRALLA EB. Human Bcl-2 reverses survival defects in yeast lacking superoxide dismutase and delays death of wild-type yeast. *J Cell Biol* 1997; **137**: 1581–1588.
- [51] MADEO F, FRÖHLICH E, FRÖHLICH K-U. A yeast mutant showing diagnostic markers of early and late apoptosis. *J Cell Biol* 1997; **139**: 729–734.
- [52] MADEO F, HERKER E, MALDENER C, WISSING S, LACHELT S, HERLAN M, FEHR M, LAUBER K, SIGRIST SJ, WESSELBORG S, FRÖHLICH K-U. A caspase-related protease regulates apoptosis in yeast. *Mol Cell* 2002; **9**: 911–917.
- [53] MIGUELEZ EM, HARDISSON C, MANZANAL MB. Hyphal death during colony development in *Streptomyces antibioticus*: morphological evidence for the existence of process of cell deletion in a multicellular prokaryote. *J Cell Biol* 1999; **145**: 515–525.
- [54] MOREIRA MEC, DEL PORTILLO HA, Milder RV, BALANCO JM, BARCINSKI MA. Heat shock induction of apoptosis in promastigotes of unicellular organism *Leishmania amazonensis*. *J Cell Physiol* 1996; **167**: 305–313.
- [55] NING S-B, GUO H-L, WANG L, SONG Y-C. Salt stress induces programmed cell death in prokaryotic organism *Anabaena*. *J Appl Microbiol* 2002; **93**: 15–28.
- [56] NORDSTRÖM K, AUSTIN SJ. Mechanisms that contribute to the stable segregation of plasmids. *Annu Rev Genet* 1989; **23**: 37–69.
- [57] PISZCZEK E, GUTMAN W. Caspase-like proteases and their role in programmed cell death in plants. *Acta Physiol Plant* 2007; **29**: 391–398.
- [58] RAFF MC. Social controls on cell survival and cell death. *Nature* 1992; **356**: 397–400.
- [59] SAMUILOV VD, OLESKIN AV, LAGUNOVA EM. Programmed cell death. *Biochemistry (Moscow)* 2000; **65**: 873–887.
- [60] SANMARTIN M, JAROSZEWSKI L, RAIKHEL NV, ROJO E. Caspases. Regulating death since the origin of life. *Plant Physiol* 2005; **137**: 841–847.

- [61] SEGOVIA M, HARAMATY L, BERGES JA, FALKOWSKI PG. Cell death in the unicellular chlorophyte *Dunaliella tertiolecta*. A hypothesis on the evolution of apoptosis in higher plants and metazoans. *Plant Physiol* 2003; **132**: 99–105.
- [62] SUZUKI Y, IMAI Y, NAKAYAMA H, TAKAHASHI K, TAKIO K, TAKAHASHI R. A serine protease, HtrA2, is released from the mitochondria and interacts with XIAP, inducing cell death. *Mol Cell* 2001; **8**: 613–621.
- [63] UREN A, O'ROURKE K, ARAVIND L, PISABARRO M, SESHAGIRI S, KOONIN E, DIXIT V. Identification of paracaspases and metacaspases: two ancient families of caspase-like proteins, one of which plays a role in MALT lymphoma. *Mol Cell* 2000; **6**: 961–967.
- [64] VACHOVA L, PALKOVA Z. Physiological regulation of yeast cell death in multicellular colonies is triggered by ammonia. *J Cell Biol* 2005; **169**: 711–717.
- [65] VAN DOORN WG, WOLTERING EJ. Many ways to exit? Cell death categories in plants. *Trends Plant Sci* 2005; **10**: 117–122.
- [66] VARDI A, BERMAN-FRANK I, ROZENBERG T, HADAS O, KAPLAN A, LEVINE A. Programmed cell death of the dinoflagellate *Peridinium gatunense* is mediated by CO₂ limitation and oxidative stress. *Curr Biol* 1999; **9**: 1061–1064.
- [67] WELBURN SC, DALE C, ELLIS D, BEECROFT R, PEARSON TW. Apoptosis in procyclic *Trypanosoma brucei rhodesiense* in vitro. *Cell Death Differ* 1996; **3**: 229–236.
- [68] WIENS M, MILLER WEG. Cell death in *Porifera*: molecular players in the game of apoptotic cell death in living fossils. *Can J Zool* 2006; **84**: 307–321.
- [69] WILLIAMS GT. PCD: a fundamental protective response to pathogens. *Trends Microbiol* 1994; **12**: 463–464.
- [70] WISSING SP, LUDOVICO P, HERKER E, BÜTTNER S, ENGELHARDT SM, DECKER T, LINK A, PROKSCH A, RODRIGUES F, CORTE-REAL M, FRÖHLICH K-U, MANNS J, CANDÉ C, SIGRIST SJ, KROEMER G, MADEO F. An AIF orthologue regulates apoptosis in yeast. *J Cell Biol* 2004; **166**: 969–974.
- [71] WOJTASZEK P. Programowana śmierć komórki. W: Woźny A, Michejda J, Ratajczak L [red.] Podstawy Biologii Komórki Roślinnej. Poznań, Wydawnictwo Naukowe UAM, 2000: 547–570.
- [72] YARMOLINSKY MB. Programmed cell death in bacterial populations. *Science* 1995; **267**: 836–837.
- [73] YOU L, COX RS, WEISS R, ARNOLD FH. Programmed population control by cell-cell communication and regulated killing. *Nature* 2004; **428**: 868–871.
- [74] YUAN J. Divergence from a dedicated cellular suicide mechanism: exploring the evolution of cell death. *Mol Cell* 2006; **23**: 1–12.
- [75] ZAGÓRSKA-MAREK B. Wzrost i różnicowanie. W: Wojtaszek P, Woźny A, Ratajczak L. [red.] Biologia Komórki Roślinnej. Funkcja. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2007: 560–615.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 13.10. 2007 r.

Przyjęto: 20.11. 2007 r.

ul. Międzychodzka 5, 60-371 Poznań

e-mail: michalinka0113@wp.pl