

ПУТИ ПЕРЕДАЧИ АПОПТОТИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ В КЛЕТКАХ НИЗШИХ ЭУКАРИОТ

© И. В. Шемарова

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН;
электронный адрес: irina@lis.mail.iephb.ru

В обзоре суммированы данные о механизмах передачи сигналов, приводящих к программируемой смерти клеток, при участии каспазоподобных ферментов и митохондриальных апоптогенных белков в клетках низших эукариот. Рассматривается роль рецепторуправляемых, каспазозависимых и каспазоне-зависимых каскадов в передаче апоптотических сигналов. Особое внимание уделяется эволюционным аспектам проблемы апоптоза.

Ключевые слова: одноклеточные эукариоты, внутриклеточная сигнализация, клеточный стресс, АФК, апоптоз, каспазы.

Принятые сокращения: АФК — активные формы кислорода, АТФ — аденозинтрифосфат, ПСК — программируемая смерть клетки, ПМ — плазматическая мембрана, $[Ca^{2+}]_i$ — концентрация внутриклеточного кальция, DDs — домены смерти, DED — эффекторный домен смерти адапторного белка, $\Delta\Psi_m$ — митохондриальный трансмембранный потенциал, EndoG — эндонуклеаза G, FADD — Fas-ассоциированный домен смерти, Fas — «рецептор смерти», TRADD — TNFR-ассоциированный домен смерти.

У низших эукариот среди программируемых клеточных процессов апоптоз является наименее изученным. Апоптоз — одна из форм ПСК с характерными морфологическими и биохимическими признаками, среди которых накопление фосфатидилсерина во внешнем монослое цитоплазматической мембраны, конденсация хроматина, фрагментация ДНК, распад клеток на апоптотные тельца являются наиболее важными. Долгое время считалось, что апоптоз как тонко регулируемый генетический процесс самоубийства на клеточном уровне свойствен лишь клеткам высокоорганизованных животных. Последние исследования показали, что феномен апоптоза и сходная с апоптозом аутофагическая гибель клеток (параптоз) имеют место не только у позвоночных, но и у беспозвоночных животных, в том числе и у наиболее примитивных — кишечнополостных (Siepp et al., 2001) и губок (Wiens, 2004). Более того, явление ПСК (апоптоза и параптоза) описано у ряда представителей одноклеточных эукариот: инфузорий *Tetrahymena thermophila* (Christensen et al., 1998, 2001), динофлагеллят *Peridinium gutanense* (Vardi et al., 1999), кинетопластидных простейших *Trypanosoma cruzi* (Ameisen et al., 1995; Debrabant et al., 2003) и *T. brucei rhodensiense* (Welburn et al., 1996, 1999), *Leishmania amazonensis* (Moreira et al., 1996) и *L. donovani* (Lee et al., 2003), споровиков *Blastocystis hominis* (Nasirudeen et al., 2001; Tan et al., 2001), миксомицетов *Dictyostelium discoideum* (Cornillon et al., 1994), а также у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Madeo et al., 1997, 2004; Ludovico et al., 2005) и *Schizosaccharomyces pombe* (Burhans et al., 2003).

К настоящему времени установлены факторы, индуцирующие у протистов апоптозоподобную смерть (см.

таблицу), определены структура и свойства некоторых ферментов, участвующих в передаче суицидных сигналов, у отдельных микроорганизмов идентифицированы и клонированы гены смерти. Однако о том, с помощью каких молекулярных механизмов у протистов передаются суицидные сигналы в геном и каким образом реализуется программа клеточного самоубийства, известно пока немного. Так, установлено, что в клетках низших эукариот существует несколько путей передачи апоптотических сигналов, напоминающих таковые в клетках Metazoa, которые в большинстве активируются клеточным стрессом и обеспечивают развитие апоптоза через механизм понижения мембранного потенциала митохондрий. Эти пути, по-видимому, имеют место у всех видов одноклеточных эукариот, обладающих митохондриями. Особенностью такой передачи сигнала является их относительная независимость от каспаз. Другой путь, распространенный у почкующихся дрожжей и инфузорий, напротив, является зависимым от ферментов, подобных каспазам млекопитающих, и структурно напоминает аналогичный путь у Metazoa, берущий начало от так называемых рецепторов смерти. Его основой служит механизм передачи суицидного сигнала от «рецепторов смерти» ПМ через цепочку сигнальных белков, включающих в себя каспазоподобный фермент, к митохондриям и затем в ядро (рис. 1). У микроорганизмов описаны далеко не все компоненты этого сигнального пути. Составляющие его звенья пока обнаружены лишь у разных представителей протистов. Так, например, рецепторы, подобные Fas, выявлены у инфузорий (Jazo-Fridmann et al., 2000), каспазоподобный белок со свойствами каспазы-8 идентифицирован в клетках дрожжей (Madeo et al., 2002), ми-

Индукторы апоптоза у одноклеточных эукариот

Вид микроорганизма	Индуктор	Литературный источник
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	α-Фактор (половой феромон) Уксусная кислота Аммоний АФК Повышенная температура Старение Вирусные токсины, K1 и K2B, зиготин	Severin, Hyman, 2002 Giannattasio et al., 2005 Vachova et al., 2005 Madeo et al., 1999 То же Herker et al., 2004 Reiter et al., 2005
<i>S. cerevisiae</i> , <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Повышенная экспрессия генов проапоптотических белков млекопитающих Делеция гена гистонового шаперона <i>ASF1/CIA1</i> Повреждение ядерной ДНК	Ligr et al., 1998; Madeo et al., 1999; Gross et al., 2000; Shimizu et al., 2000 Yamaki et al., 2001; Burhans et al., 2003
<i>Leishmania amazonensis</i> <i>L. donovani</i>	NO Тепловой шок АФК Ca ²⁺ Ингибиторы комплексов I, III и III дыхательной цепи митохондрий	Holzmuller et al., 2002 Moreira et al., 1996 Das et al., 2001; Mukherjee et al., 2002 Mukherjee et al., 2002 Mehta, Shaha, 2004
<i>Plasmodium falciparum</i> <i>Trypanosoma brucei</i>	Кемптотедин Хлороквин Конканавалин А Ca ²⁺ АФК Простагландин D2 Кверцетин	Sen et al., 2004 Picot et al., 1997 Welburn et al., 1999 Ridgley et al., 1999 То же Figarella et al., 2005 Mamani-Matsuda et al., 2004
<i>T. cruzi</i>	Кондиционированная среда, антибиотик G418	Ameisen et al., 1995
<i>Blastocystis hominis</i> <i>Peridinium gatunense</i> <i>Trichomonas foetus</i>	Метронидазол Недостаток CO ₂ , окислительный стресс H ₂ O ₂	Nasirudeen, 2004 Vardi et al., 1999 Mariane et al., 2003

тохондриальные апоптотические белки обнаружены у миксомицетов (Arnoult et al., 2001) и дрожжей (Wissing et al., 2005). Список белков, участвующих у одноклеточных эукариот в каспазозависимой передаче сигналов, может быть продолжен. Однако даже с учетом всех имеющих к настоящему времени данных о проапоптотических белках протистов пока еще трудно составить четкое представление о структурно-функциональной организации лигандопосредованного апоптотического пути у микроорганизмов, принадлежащих к различным таксономическим группам.

Недавно в клетках Metazoa был обнаружен новый каспазозависимый путь, реализуемый при участии проапоптотических митохондриальных белков, способных к ядерной транслокации (Lorenzo et al., 1999; Susin et al., 1999, 2000; Irvine et al., 2005; Mishra, Kumar, 2005). У млекопитающих этот путь выполняет дублирующую функцию и активируется в случае ингибирования ключевых ферментов каспазного механизма. У протистов также выявлены некоторые элементы каспазозависимого пути, но их роль в апоптотическом процессе не совсем ясна. В настоящей статье мы приво-

дим лишь гипотетическую схему передачи сигнала по этому пути.

К настоящему времени в литературе накопились многочисленные данные, касающиеся различных аспектов ПСК у микроорганизмов. Цель настоящего обзора ограничивается рассмотрением лишь общих схем передачи апоптотических сигналов у эукариотических микроорганизмов и обобщением новых сведений, свидетельствующих об эволюционной консервативности апоптотического сигнального механизма.

Путь передачи внеклеточных апоптотических сигналов при участии «рецепторов смерти» и каспаз

В клетках млекопитающих этот путь представлен разветвленной сетью белков, тонко и дифференцированно регулирующих поступающие из внешней среды сигналы. Для того чтобы понять, в чем состоит эволюционная консервативность апоптотического пути, начинающегося от специализированных рецепторов, рассмотрим

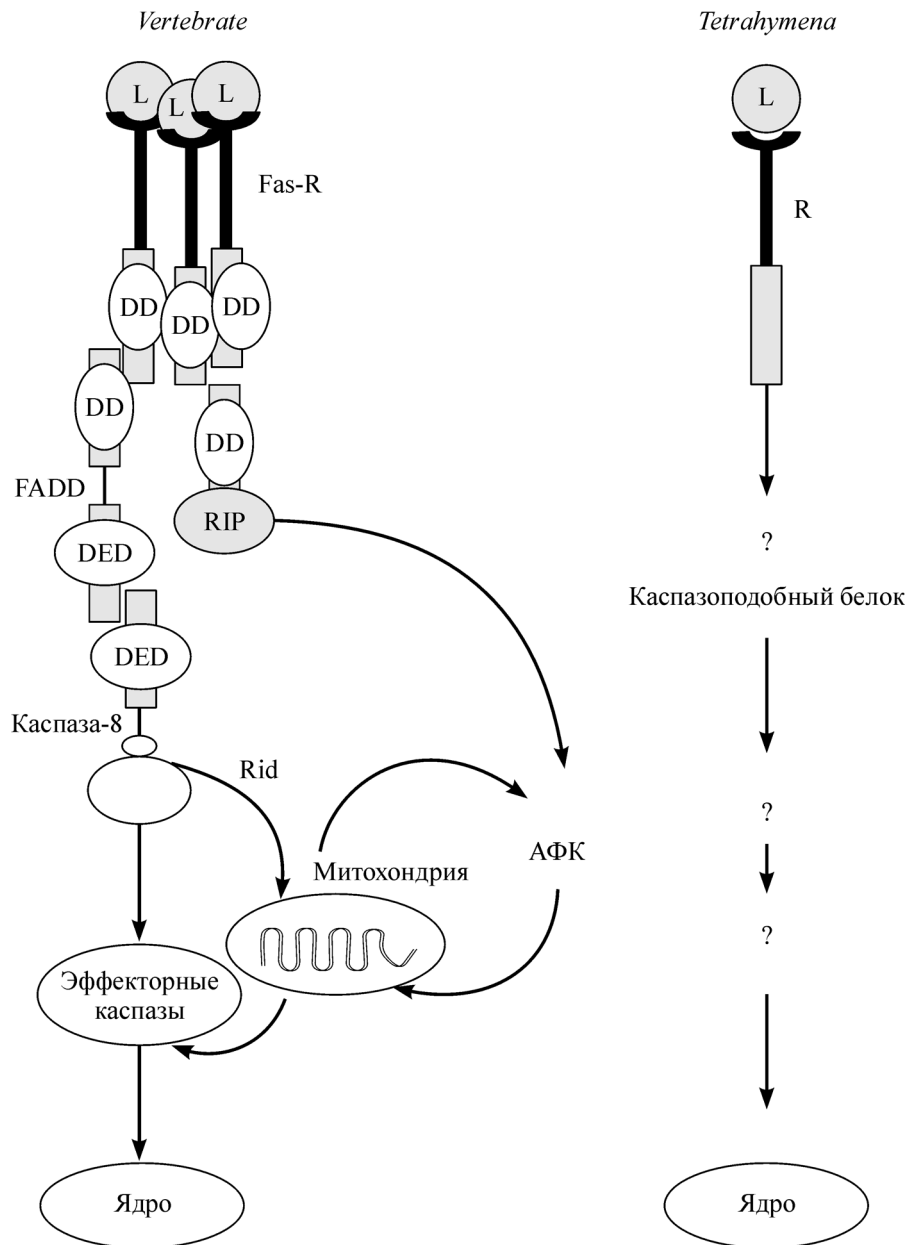


Рис. 1. Схема сигнальных рецепторзависимых апоптотических путей.

L — лиганд, R — рецептор, Fas-R — Fas-рецептор, DD — домены смерти, DED — эффекторный домен смерти, Rid — антирецепторный комплекс белков (the receptor internalization and degradation); остальные обозначения см. в «Принятых сокращениях».

подробнее основные составляющие этого пути в клетках Metazoa.

Внеклеточные апоптотические сигналы передаются в клетку многоклеточного организма через связывание специфических лигандов с тримерными «рецепторами смерти», в структуру которых входят одноименные домены «death domains» (DDs) (Locksley et al., 2001). DDs обнаружены в цитоплазматической части «рецепторов смерти», таких как Fas, TNFR1, DR4 и DR5, принадлежащих суперсемейству TNFR — рецепторов фактора некроза опухолей (Locksley et al., 2001). Контакт рецептора с лигандом индуцирует гомотипические взаимодействия «рецептора смерти» с FADD — Fas-ассоциированным доменом смерти (рис. 1) или с TRADD — TNFR-ассоциированным доменом смерти (на рисунке не показан) специфического адапторного белка. Закреп-

ление на «рецепторе смерти» DD адапторного белка приводит к конформационным изменениям в молекуле последнего и делает другой его домен, названный DED (эффекторным доменом смерти), доступным для взаимодействия с DEDs в продоменах иницирующих каспаз-8 и -10. Результатом этого взаимодействия является формирование на рецепторе сигнального комплекса DISC (death-inducing signaling complex), который вызывает агрегацию прокаспаз-8 и -10 (Green, 1998, 2005). Этот процесс является ключевым в превращении прокаспаз в каспазы. Он происходит в результате автокаталитической активации прокаспаз посредством их расщепления по аспарагиновым остаткам и удаления продоменов, содержащих DEDs (Muzio, 1998). В каспазном каскаде каспазы-8 и -10 являются иницирующими. Функциональная роль этих ферментов состоит в активации эф-

фекторных каспаз — нисходящих мишеней каспазного каскада.

Ключевой эффекторной каспазой каскада является каспаза-3, активация которой запускает ядерную деградацию, после чего развитие апоптоза становится необратимым. Важно подчеркнуть, что субстратами каспазы-3 служат не только ядерные, но и цитоплазматические мишени, основной из которых является каспаза-9 (Roy, Nicholson, 2000). Значение этой каспазы состоит в том, что она является пусковой в развитии апоптоза, индуцированного клеточным стрессом. Способ активации каспазы-9 в значительной степени отличается от такового инициирующих каспаз-8 и -10. В частности, для активации прокаспазы-9 не требуется расщепления ее молекулы на большую и малую субъединицы (Stennicke, Salvesen, 1999). Фермент активируется связыванием со своим адапторным белком Араф-1 при участии цитохрома *c*, освобождаемого из митохондрий (Li et al., 1997). Подробнее об этой ветви апоптотического пути будет изложено ниже.

У большинства изученных видов одноклеточных эукариот на клеточной поверхности нет специализированных рецепторов, воспринимающих суицидный сигнал. По-видимому, роль сенсоров апоптотического сигнала у микроорганизмов выполняют белки, чувствительные к изменению физико-химических свойств окружающей среды. Эти белки локализованы в ПМ клеток и способны запускать стрессактивируемые сигнальные пути через изменение Ca^{2+} -гомеостаза и генерацию АФК. По всей вероятности, у микроорганизмов именно эти белки, трансформирующие внеклеточные сигналы во внутриклеточные, являются ведущими и в индукции дальнейших событий, в конечном счете приводящих к апоптозу. Более того, в клетках некоторых протистов (дрожжей и кинетопластидных простейших) АФК выполняют функцию прямых индукторов апоптоза (Madeo et al., 1999; Ridgley et al., 1999). В данном случае апоптотический путь может запускаться супероксидом кислорода, генерируемым в результате перекисного окисления липидов ПМ. Во внутриклеточной передаче апоптотических сигналов АФК и ионы Ca^{2+} играют роль вторичных посредников. Им отводится важная роль в стимуляции митохондриального апоптотического механизма (Mehta, Shaha, 2004), но в то же время имеются указания и на то, что они служат коактиваторами каспазоподобных белков (Madeo et al., 2004) — основных участников лигандопосредованного апоптотического пути.

Отсутствие рецепторов, содержащих «домены смерти», адапторных белков, аналогичных TRADD и FADD млекопитающих, и соответственно механизма формирования сигнасомы, запускающей каспазный каскад, позволяет думать, что у протистов отсутствует лигандопосредованный апоптотический путь, характерный для клеток Metazoa. Однако это не так. Наличие у них каспазоподобных белков с функциями инициаторных каспаз млекопитающих (см. в следующем разделе), регулируемых вторичными мессенджерами, и ядерных субстратов каспаз служит доказательством существования у них подобного пути.

Из других компонентов лигандопосредованного каспазного пути в реализации апоптотических сигналов у протистов принимают участие некоторые прокариотические предшественники апоптотических белков, а именно TRAF-подобный белок (у миксомицетов), AP-ATФаза и HtrA-подобная протеаза OMI (у низших грибов), эндонуклеаза G и цитохром *c* (у дрожжей); подробнее см. об-

зоры: Ameisen, 2002; Koonin, Aravind, 2002; Skulachev, 2002; Madeo et al., 2004. Интересно отметить, что недавно у паразитических амёб *Entamoeba histolytica*, *E. moshkovskii* и *E. invadens* был обнаружен белок, который необычайно схож с транскрипционным фактором p53 человека (до 54 % структурной гомологии) (Mendoza et al., 2003). В клетках млекопитающих этот белок принимает участие в запуске апоптоза, вызванного повреждением ДНК, активацией онкогенов и гипоксией (Vousden, Woude, 2000). Белок стимулирует «рецепторы смерти», взаимодействуя с проапоптотическим белком Вах и активирует транскрипцию генов апоптоза. Кроме того, p53 активирует модулятор апоптоза PUMA, который связывает белок Bcl-2 и тем самым стимулирует выход цитохрома *c* из митохондрий (Nakano, Vousden, 2001). Участвует ли p53-подобный белок в развитии апоптоза у амёб, пока неизвестно, но исходя из данных о его индукции, биохимических, структурных и функциональных свойствах, а также данных о его клеточной компартиментализации и способности к ядерной транслокации (Mendoza et al., 2003) такую возможность можно допустить.

Существование у протистов проапоптотических сигнальных и регуляторных белков может свидетельствовать о том, что молекулярные элементы каспазного механизма в эволюции возникают уже на уровне одноклеточного организма. В пользу столь раннего эволюционного появления функциональных компонентов каспазного каскада говорит и пример специфического действия про- и антиапоптотических белков млекопитающих из семейства Bcl-2/Bax (отсутствие у низших эукариот) на дрожжах. У этих микроорганизмов к развитию признаков апоптоза приводит экспрессия гена *bax*, а коэкспрессия гена *bcl-2* (нейтрализующего действие белков Вах) предотвращает его развитие (Gross et al., 2000; Shimizu et al., 2000).

С учетом того, что большинство регуляторов апоптоза являются полифункциональными белками, можно предположить, что первоначально они обеспечивали общий адаптивный ответ клетки и не были связаны с передачей суицидных сигналов. Толчком к развитию новой для этих белков функции, по-видимому, послужили структурные преобразования в ядерном аппарате клетки, связанные с горизонтальным переносом генов (Koonin, Aravind, 2002).

Каспазы и родственные им ферменты у одноклеточных эукариот

Каспазы являются основными компонентами рецепторзависимого апоптотического пути, поэтому их обнаружение в клетках низших эукариот может служить прямым доказательством наличия у них сходного сигнального пути. В связи с этим представляется важным рассмотреть сведения, касающиеся строения и свойств каспазоподобных белков из клеток протистов.

К настоящему времени белки, имеющие функциональное сходство с каспазами млекопитающих, обнаружены у дрожжевых и слизистых грибов (Madeo et al., 2002; Roisin-Bouffay et al., 2004), некоторых простейших (Das et al., 2001; Szallies et al., 2002; Al-Olayan et al., 2003; Kobayashi, Endoh, 2003; Mariante et al., 2003; Nasirudeen, Tan, 2004) и одноклеточных водорослей (Okamoto, Hastings, 2003).

Наиболее близка к каспазам млекопитающих дрожжей метакаспаза дрожжей *S. cerevisiae* (каспаза-1, YCA1,

Yor197w) (Madeo et al., 2002). YCA1 (мол. масса 53 кДа) состоит из большой (мол. масса 20 кДа) и малой (мол. масса 12 кДа) каталитических субъединиц. Как и в инициирующей каспазе-8 млекопитающих, каспаза-1 дрожжей активируется в результате удаления малой субъединицы. Протеолитическая активность YCA1 установлена в отношении белков VEID-AMC и IETD-AMC — субстратов инициирующих каспаз млекопитающих, но не DEVD-AMC — субстрата эффекторных каспаз (Madeo et al., 2002). На основании приведенных данных, а также результатов генетического и ингибиторного анализа авторы цитируемой работы делают важное заключение о функциональном сходстве YCA1 с каспазой-8 млекопитающих — классической инициирующей каспазой в апоптотическом пути, берущем начало от специализированных «рецепторов смерти».

Метакаспазы (TbMCA1—5) и кодирующие их гены идентифицированы у *Trypanosoma brucei* (Szallies et al., 2002). Структура и общие свойства фермента приведены в работах Uren et al., 2000; Szallies et al., 2002. Роль TbMCA1—5 в апоптотическом процессе у трипаносом пока не определена. Интересно, что гетерологичная экспрессия гена *TbMCA4* в почкующиеся дрожжи приводит к ингибированию клеточного роста, митохондриальной дисфункции и клеточной смерти. Исходя из этих данных можно предположить, что метакаспазы *T. brucei* участвуют в контроле за клеточными процессами, зависимыми от апоптотической функции митохондрий. Мутационные исследования показали, что кодируемая геном *TbMCA4* метакаспаза TbMCA4 функционирует как цистеиновая протеаза, но ядерные субстраты TbMCA4 пока остаются неизвестными (Szallies et al., 2002).

У малярийного паразита *Plasmodium falciparum* идентифицированы 92 протеазы, из которых кальпаин, метакаспаза и сигнальная пептидаза I являются медиаторами в сигнальной передаче. Эти белки имеют лишь незначительное сходство со своими аналогами из клеток млекопитающих (Wu et al., 2003).

Таким образом, у некоторых представителей простейших (по крайней мере альвеолят), так же как у низших грибов и растений, есть метакаспазы, имеющие определенное структурное и функциональное сходство с каспазами Metazoa.

Каспазоподобные белки у большинства изученных видов простейших до сих пор не идентифицированы, однако к настоящему времени накоплены многочисленные косвенные доказательства их существования и важной роли в развитии апоптоза (Vardi et al., 1999; Das et al., 2001; Ejercito, Wolfe, 2003; Nasirudeen, Tan, 2004, и др.). Так, с помощью субстратно-ингибиторного анализа было впервые показано наличие у *T. thermophila* белков, функционально подобных каспазам-8 и -9 млекопитающих. Эти данные интересны еще и тем, что позволяя предполагать возможность функциональной связи Fas-подобного рецептора, обнаруженного у этого микроорганизма ранее (Jazo-Fridmann et al., 2000), с нисходящей инициирующей каспазой рецепторзависимого апоптотического пути (Kobayashi, Endoh, 2003). В данном контексте важно отметить, что у тетрахимен отсутствует белок со свойствами каспазы-3 (Kobayashi, Endoh, 2003), однако такой белок обнаружен у другого протозойного организма — *Blastocystis hominis*, лишенного «рецепторов смерти» и инициирующих каспаз (Nasirudeen et al., 2001). Исследование свойств данного белка были проведены с использованием моноклональных антител 1D5

(для индукции апоптоза) и CPP32 (для иммуноблоттинга), а также методов цветовой и проточной цитофотометрии. Максимальная каспазная активность белков отмечалась через 6 ч после индукции ПСК. На основании этих данных авторы предположили, что каспазоподобный белок необходим микроорганизмам для реализации заключительных стадий ПСК. Однако дальнейшие исследования, основанные на применении *in vivo* специфического ингибитора каспазы-3 (Ac-DEVD-CHO), привели ученых к заключению о том, что у *B. hominis* имеется и другой, каспазозависимый, путь передачи и реализации сигналов о клеточной смерти (Nasirudeen, Tan, 2004). Каспазо-3-подобные белки обнаружены и у некоторых других протозойных микроорганизмов (Sen et al., 2004).

Отсутствие у протистов рецепторных механизмов передачи апоптотических сигналов (за исключением нескольких видов инфузорий) при наличии у них функционально активных каспазоподобных ферментов наводит на мысль о том, что в ходе прогрессивной эволюции у одноклеточных эукариот первоначально возник менее разветвленный и более быстрый путь передачи апоптотических сигналов, опосредуемый каспазо-3-подобными белками. Следует подчеркнуть, что у большинства исследованных видов эукариотических микроорганизмов имеются и иные пути передачи апоптотических сигналов, не зависящие от каспаз. Речь о них пойдет ниже.

Из клеток миксомицетов *D. discoideum* также был выделен фермент, родственник каспазам млекопитающих (Uren et al., 2000). Этот белок, относящийся к паракаспазам, подобно каспазам млекопитающих, имеет каталитическую Cys-His-диаду, но содержит структурные различия в канонической последовательности QACXG, определяющей протеолитические свойства каспаз. Такая отличительная черта в строении паракаспазы *D. discoideum*, по-видимому, существенна для проявления субстратной специфичности фермента (Roisin-Bouffay et al., 2004). Другой особенностью паракаспазы *D. discoideum* является отсутствие DD и иммуноглобулиновых доменов, имеющих в каспазах и паракаспазах многоклеточных (Uren et al., 2000; Lamkanfi et al., 2002). Анализ первичной структуры паракаспазы *D. discoideum* показал, что этот белок содержит лишь один небольшой мотив, структурно близкий своему аналогу в каталитическом домене классических каспаз (Roisin-Bouffay et al., 2004).

Биологическая роль известных к настоящему времени паракаспаз пока неясна. В частности, неизвестно, вовлекаются ли эти ферменты, в том числе и паракаспаза *D. discoideum*, в развитие апоптоза. Недавно была сделана попытка оценить вклад паракаспазы человека MALT1 в передачу апоптотических сигналов (Lucas et al., 2001). В результате установлена способность этого белка в комплексе с Bcl-10 активировать фактор транскрипции NF-κB (Uren et al., 2000; Lucas et al., 2001), однако прямого вовлечения MALT1 в механизм развития апоптоза не обнаружено.

Миксомицеты *D. discoideum* имеют лишь один паракаспазный ген и ни одного каспазного и метакаспазного гена (Uren et al., 2000; Aravind, Koonin, 2002; Roisin-Bouffay et al., 2004), поэтому они могут служить удобными клеточными моделями для изучения функциональной роли паракаспаз в развитии ПСК.

С помощью негативных по паракаспазному гену (*pcp*) клонов клеток четырех штаммов *D. discoideum* было установлено, что проявления ПСК в родительских

клетках и (*pcp*)-мутантах одинаковы (Roisin-Bouffay et al., 2004). Для клеток *D. discoideum* характерен особый вакуолярный аутофагический тип ПСК, или параптоз, который носит черты как апоптоза, так и некроза (Cornillon et al., 1994; Levraud et al., 2003). И хотя многие вопросы, связанные с участием паракаспаз в механизме развития ПСК, пока остаются неясными, благодаря проведенным исследованиям (Roisin-Bouffay et al., 2004) стало очевидно, что для развития каспазозависимой аутофагической смерти *D. discoideum* паракаспазы не требуются. Более того, аутофагическая клеточная смерть — первый пример ПСК, который для своего развития не нуждается ни в одном из известных видов каспаз (Roisin-Bouffay et al., 2004). Исходя из этого авторами было сделано заключение о том, что у *D. discoideum* паракаспазы не требуются для развития ПСК. Полученные данные важны для понимания путей эволюции механизмов развития ПСК.

Аутофагическая клеточная смерть обнаружена и у двух видов протозойных организмов — *Tetrahymena thermophila* (Christensen et al., 1998) и *Leishmania donovani* (Bera et al., 2003). У этих эукариотических микроорганизмов она является также каспазозависимой и развивается в сочетании с апоптозом. Интересно отметить, что у простейших апоптоз в отличие от аутофагической клеточной смерти по крайней мере частично зависит от каспаз (Das et al., 2001; Ejercito, Wolfe, 2003; Kobayashi, Endoh, 2003).

Митохондриальный апоптотический путь, активируемый клеточным стрессом

В клетках эукариот имеется еще один широко распространенный путь передачи апоптотических сигналов. Он запускается клеточным стрессом и у млекопитающих реализуется при участии инициирующей каспазы-9. Этот путь индуцируется на (или вблизи) поверхности митохондрий, где каспаза-9 модифицируется в результате образования комплекса с цитохромом *c*, белком Araf-1 и dATP. Как уже отмечалось выше, способ ее активации принципиально отличается от способа активации каспазы-8. Поскольку механизм передачи сигнала по этому пути важен для сравнения с таковым в клетках низших эукариот, дадим его краткое описание.

Ключевым компонентом этого механизма является каспаза-9, которая в неактивной форме находится в цитоплазме клеток. Прокаспазы-9 (неактивная форма фермента) имеет большой продомен, содержащий каспазо-рекрутирующий домен CARD (caspase recruitment domain), структурно близкий DD и DED «рецепторов смерти» и адапторных белков (Hofmann et al., 1997). В процессе активации фермента продомен каспазы-9 не удаляется. В отличие от каспазы-8 расщепление между большой и малой субъединицами не является необходимым для активации прокаспазы-9 (Stennicke et al., 1999). Прокаспазы-9 активируются посредством связывания в адапторе Araf-1 (apoptotic protease activating factor-1) (Li et al., 1997). Неактивный Araf-1 находится в цитоплазме в виде мономера. Освобожденный из митохондрий цитохром *c*, являющийся по сути индуктором этого сигнального пути, связывает инертный Araf-1 и ускоряет его олигомеризацию и соответственно активацию (Zou et al., 1997; Chereau et al., 2005). В активной конфигурации Araf-1 формирует комплекс из семи молекул Araf-1, в

центре которого находятся домены CARDS. Это приводит к агрегации и активации протеаз, которые также находятся в составе данного сигнального комплекса (Shiozaki et al., 2002). Формирование молекулярного комплекса, названного апоптосомой, приводит к мультимеризации и такому конформационному изменению структуры белков, которое позволяет одному из двух сайтов тетрамера каспазы-9 быть активным (Renatus et al., 2001). Активированная же каспаза-9 расщепляет и активирует эффекторную каспазу-3, которая индуцирует деградационные события апоптоза через стимуляцию ядерных протеаз и механизм рассеивания митохондриального трансмембранного потенциала.

В клетках протистов отсутствует характерный для клеток высших эукариот механизм активации каспазо-3-подобных белков через формирование супрамолекулярного сигнального комплекса. Исходя из имеющихся сведений складывается представление о том, что у них передача суицидных сигналов, индуцированных клеточным стрессом, происходит преимущественно по схеме: активация каспазо-3-подобных протеаз → понижение $\Delta\Psi_m$ → повышение активации ядерных нуклеаз → частичная конденсация хроматина. Наиболее подробно этот путь передачи сигнала изучен у кинетопластидных протозойных паразитов. Для иллюстрации приведенной схемы дадим описание этого пути у *Leishmania donovani*.

При отсутствии белков, подобных каспазе-9, у лейшманий выработался необычный, но достаточно эффективный механизм активации каспазо-3-подобных протеаз. Оказалось, что эти ферменты активируются в результате повышения внутриклеточной концентрации K^+ , изменение которой индуцируется клеточным стрессом и непосредственно связано с осмотическим давлением внутри клетки (Sen et al., 2004a). Увеличение протеазной активности сопровождается выходом из митохондрии (кинетопластидные микроорганизмы содержат только одну митохондрию) молекул цитохрома *c*, которые, по-видимому, также являются катализаторами заключительных стадий апоптоза (через формирование апоптотического комплекса). Кроме того, отмечено, что в результате активации каспазо-3-подобных протеаз (после освобождения цитохрома *c*) имеет место деполяризация $\Delta\Psi_m$ (Lee et al., 2002; Sen et al., 2004b). Последнее событие является главным в развитии поздней, необратимой, стадии апоптоза (Кгоетер, 2003). Известно, что клетки с нарушенным $\Delta\Psi_m$ становятся необратимо коммитированными к апоптозу, даже в том случае когда стрессовый фактор перестает действовать на клетку (Zamzami et al., 1995). Таким образом, как и в клетках высших эукариот, у лейшманий основную роль в развитии поздней стадии апоптоза играют каспазо-3-подобные протеазы, которые активируют ядерные нуклеазы и тем самым инициируют деградиацию ядерной ДНК. Субстраты каспазо-3-подобных протеаз пока не идентифицированы, однако имеются косвенные указания на то, что мишенью действия этого фермента в ядре, так же как и у Metazoa, может быть белок acinus. Протеолитическое расщепление этого субстрата необходимо для конденсации хроматина — ядерного деградационного процесса, типичного как для клеток высших эукариот, так и для кинетопластидных простейших (Moreira et al., 1996; Welburn et al., 1999; Arnould et al., 2002; Figarella et al., 2005).

О том, как передаются апоптотические сигналы в ядро других протистологических объектов, пока известно очень мало. По-видимому, эта передача осуществля-

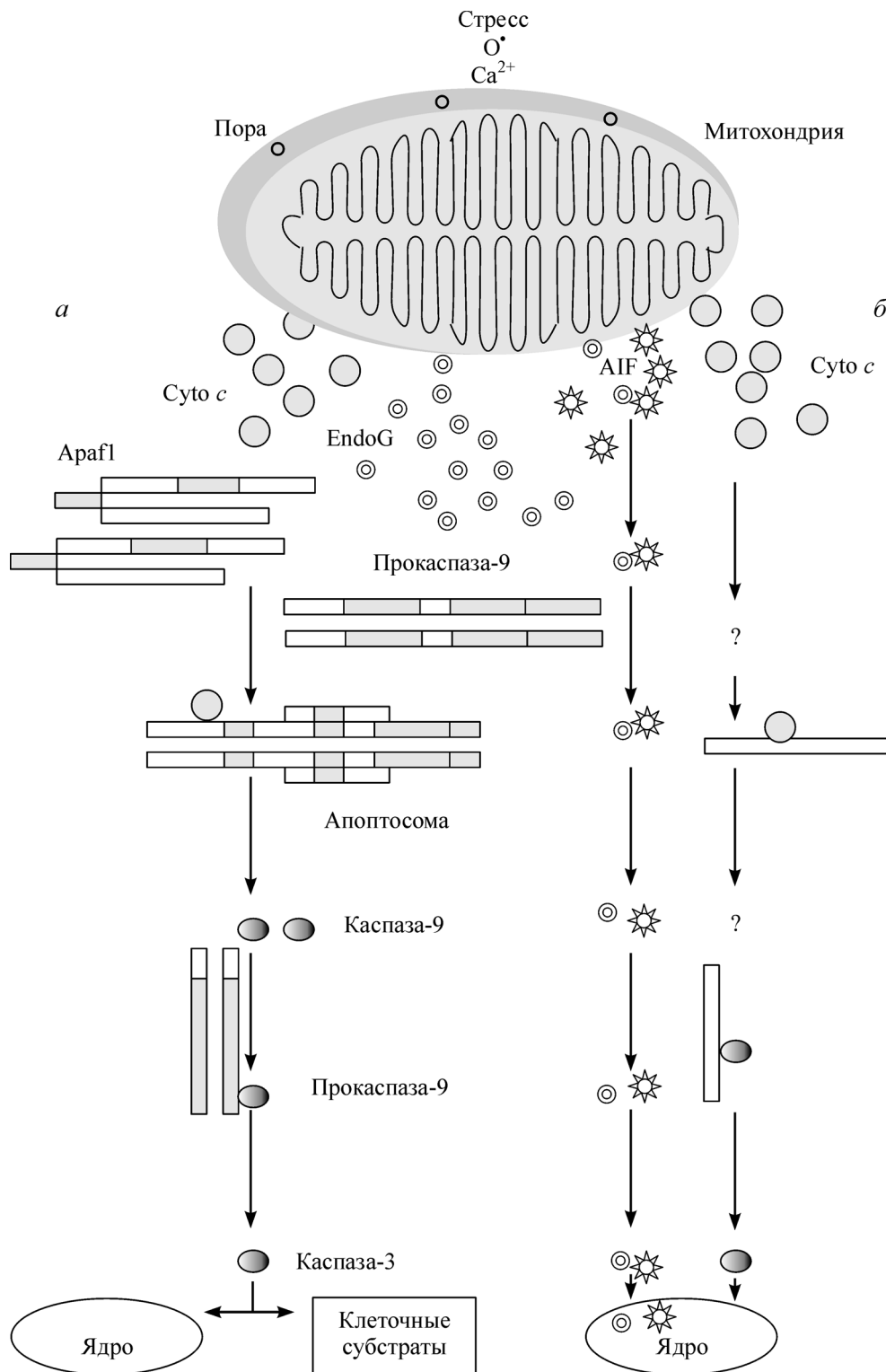


Рис. 2. Схема митохондриального апоптотического пути в клетках высших и низших эукариот.

a, б — апоптотические сигнальные пути, инициируемые клеточным стрессом, в клетках млекопитающих и в клетках *Saccharomyces cerevisiae* соответственно. AIF — апоптоиндуцирующий фактор, Cyto *c* — цитохром *c*, Araf1 — адапторный белок, «?» — неидентифицированные мишени; остальные обозначения см. в «Принятых сокращениях».

ется преимущественно без участия каспазоподобных белков. Механизмы такой передачи у протистов различны и зависят как от вида микроорганизма, так и от типа передаваемого сигнала. У большинства исследованных видов протистов, так же как и у лейшманий, исключите-

льно важное значение в индукции ядерного апоптоза играют АФК (см. таблицу). Участие АФК в процессе апоптоза доказывается тем, что их продукция в клетках существенно возрастает перед такими важными событиями апоптоза, как деполяризация митохондриальной

мембраны, освобождение цитохрома *c* и фрагментация ядерной ДНК (Burhang et al., 2003). В настоящее время появляется все больше данных о том, что АФК могут участвовать в передаче апоптотических сигналов, не зависящих от каспазного пути (Castedo et al., 2002; Kang et al., 2004; Liu et al., 2005). В клетках млекопитающих этот путь связан с понижением Ψ_m , освобождением из митохондрий апоптогенных белков AIF и эндонуклеазы G и последующим перемещением последних из цитоплазмы в ядро (Liu et al., 2005). Интересно, что гомологи вышеназванных апоптогенных белков выявлены и в клетках низших грибов — миксомицетов (Arnoult et al., 2001) и дрожжей (Vincent et al., 1988; Ikeda, Kawasaki, 2001; Wissing et al., 2001; Low et al., 2002). По-видимому, они также опосредуют передачу апоптотических сигналов по каспазозависимому пути, сходному с таковым в клетках высших эукариот. Модель такой передачи мы рассмотрим ниже на примере *Dictyostelium discoideum*.

В данном разделе представляется логичным рассмотреть Ca^{2+} -зависимый путь передачи апоптотических сигналов, инициируемый окислительным стрессом. Такой путь, приводящий к апоптозу, выявлен в клетках лейшманий (Mukherjee et al., 2002) и трипаносом (Ridgley et al., 1999) и может являться прототипом апоптотических путей митохондриального происхождения в клетках Metazoa (рис. 2).

Ключевым моментом в Ca^{2+} -зависимой передаче апоптотических сигналов является многократное повышение концентрации внутриклеточного кальция, вызванное АФК. У промастигот *Leishmania donovani* к возникновению апоптотического кальциевого сигнала приводит понижение $\Delta\Psi_m$ (Mukherjee et al., 2002), у *Trypanosoma cruzi* — нарушение их способности аккумулировать Ca^{2+} (Ridgley et al., 1999). Ранее на примере нескольких типов клеток млекопитающих было показано, что нарушение кальциевого гомеостаза в сочетании с увеличенной продукцией АФК токсично для клеток и может инициировать апоптоз (Richter et al., 1995; Lipton, Nicotera, 1998; Nicotera, Orrenius, 1998; Tan et al., 1998). Механизм развития апоптоза в таких клетках связан с повышением проницаемости каналов внутренней митохондриальной мембраны (гигантской поры) при участии проапоптотических белков Вах и Bid в сочетании с кардиолипином (Zoratti et al., 1995; Zamzami, Kroemer, 2003). Открывание поры вызывает набухание митохондрий, повреждение их наружной мембраны и выход из межмембранного пространства в цитоплазму апоптогенных белков — цитохрома *c* и AIF. На примере лейшманий было показано, что у простейших митохондриальные изменения не сопряжены с формированием гигантской поры (Mukherjee et al., 2002). Каким образом инициируются дальнейшие внутриклеточные события, приводящие к апоптозу микроорганизмов, пока не совсем ясно. Очевидно лишь то, что у простейших (на примере *T. cruzi*) под действием АФК происходит повышение проницаемости ядерной мембраны для Ca^{2+} (Ridgley et al., 1999). Авторы цитируемой работы предполагают, что ионы Ca^{2+} в результате массивного проникновения в ядро могут непосредственно активировать эндонуклеазу, ответственную за фрагментацию ДНК. В клетках протистов специфические Ca^{2+} -зависимые эндонуклеазы пока не идентифицированы, но исходя из данных о широком распространении этих ферментов в клетках разного уровня организации можно с уверенностью до-

пустить возможность их существования и у простейших (Eastman, 1995a; Urbano, 1998; Hickley et al., 2001).

Другие виды клеточного стресса, такие как нарушение осмотического давления в клетке, ацидофикация, метаболический стресс и механические повреждения оргanelл, могут также опосредовать свое апоптотическое действие через механизм повышения $[Ca^{2+}]_i$. В этом случае в сигнальную сеть белков, включенных в передачу апоптотического сигнала, как и в клетках Metazoa, по-видимому, вовлекаются хлорные каналы (Okada et al., 2001; Dupere-Minier et al., 2004), а также ацидокальцисома и неспецифические протеазы — белки, ответственные за индукцию каспазозависимого ядерного апоптоза (Eastman, 1995b). Ни кальпаинов, ни белков, подобных каспазе-12, — важных регуляторов Ca^{2+} -зависимого апоптоза в клетках млекопитающих (Croall, Demartino, 1991; Chiang et al., 2005; Tanaka et al., 2005) — у протистов не выявлено. Лишь в клетках *D. discoideum* были обнаружены гомологи ALG-2 — кальцийсвязывающих белков млекопитающих, родственных кальпаинам (Ohkouchi et al., 2001; Aubry et al., 2002), однако их роль в развитии апоптоза не установлена.

Каспазозависимый путь передачи апоптотических сигналов

Использование мутантов, негативных по каспазам-8, -9 и -3, а также субстратно-ингибиторного анализа для выяснения роли отдельных каспаз в реализации ПСК позволило сделать два важных вывода: каспазы не всегда индуцируют ПСК (Abraham, Shaham, 2004) и не всегда требуются для запуска апоптоза (Bidere, Senik, 2001; Lockshin, Zakeri, 2002). К настоящему времени установлено несколько механизмов развития апоптоза, не зависящих от каспаз. Одни из них связаны с проапоптотическим действием эндогенных некаспазных протеаз (лизосомных протеаз, гранзимов), а также протеосомного комплекса (Johnson, 2000), другие — с действием апоптогенных митохондриальных белков AIF, WOX1, AMID, PRG3, Hsp11, эндонуклеазы G (EndoG) и некоторых других (Lorenzo, Susin, 2004).

В клетках протистов (дрожжей, миксомицетов и трипаносом) обнаружен митохондриальный каспазозависимый механизм запуска ПСК. В ряде случаев активация этого механизма приводит не к апоптозу, а к вакуолярной аутофагической клеточной смерти — параптозу, который отличается от классического апоптоза рядом существенных признаков. Основные из них — вакуолизация цитоплазмы и отсутствие олигосомной фрагментации ДНК (Olie et al., 1998; Lockshin, Zakeri, 2004). Параптоз описан в литературе уже более 30 лет назад (Lockshin, 1969). Долгое время считалось, что его индукция сопряжена с активацией лизосомальных протеаз, конечным действием которых является коллапс ядра (гистологическая терминология) (Schweichel, Merker, 1973; Lockshin, Zakeri, 2001). Однако в последнее время установлено, что этот вид клеточной смерти может инициироваться в клетках Metazoa через механизм освобождения из митохондрий белка AIF (Lockshin, Zakeri, 2004). С эволюционной точки зрения выявленный факт интересен тем, что позволяет объяснить, каким образом шло становление механизмов клеточной смерти у одноклеточных эукариот на основе структурных элементов (AIF, AndoG и HtrA2), впервые возникших в прокариотических клетках.

Гомолог белка AIF обнаружен в клетках дрожжей *S. cerevisiae* (Wissing et al., 2004), *S. pombe* (Lorenzo et al., 1999), миксомицетов *D. discoideum* (Arnoult et al., 2001), а гомологи неспецифической ДНКазы EndoG и сериновой протеазы Omi/HtrA2 — в клетках почкующихся дрожжей *S. cerevisiae* (Fahrenkrog et al., 2004).

Наиболее древними проапоптотическими белками, перешедшими в ходе эволюции в клетки эукариот из прокариотических организмов, по-видимому, являются протеазы EndoG и Omi/HtrA2. Они имеют относительно простую структурно-функциональную организацию, позволяющую белкам участвовать не только в протеолитическом процессе, но и в сигнальной трансдукции. Рассмотрим вкратце функции каждой из них.

У прокариот основная функция EndoG состоит в обеспечении процессов, направленных на утилизацию белков (Lorenzo, Susin, 2004). У млекопитающих EndoG участвует преимущественно в регенеративных внутриклеточных процессах, а именно в восстановлении поврежденной ядерной ДНК и репликации митохондриальной ДНК (Lorenzo, Susin, 2004). Кроме того, как уже отмечалось выше, этот фермент играет важную роль в реализации заключительных стадий ПСК (Li et al., 2001; Parrish et al., 2001). Авторами цитируемых работ показано, что под действием апоптотических стимулов EndoG транслоцируется из митохондрий в ядро, где, подобно каспазоактивируемой ДНКазе CAD, обеспечивает деградацию ядерной ДНК на олигонуклеосомные фрагменты. У дрожжей EndoG также участвует в реализации ПСК. Примечательно, что у *S. cerevisiae*, имеющих примитивный механизм передачи апоптотического сигнала при участии каспазоподобного белка, отсутствует гомолог белка CAD млекопитающих. Функцию каспазоактивируемой ДНКазы в данном случае, по-видимому, играет EndoG. Так как у высших эукариот CAD и EndoG проявляют свою активность независимо друг от друга, можно предположить, что первоначально у эукариот функцию деградации ядерной ДНК выполняла прокариотическая EndoG. ДНКазы, зависящая от каспаз, по всей вероятности, появилась у эукариот лишь после формирования каскадного механизма передачи апоптотического сигнала в связи с переходом к многоклеточности.

Эндопротеаза HtrA у бактерий выполняет функцию шаперона и участвует в рефолдинге или деградации белков в периплазматическом пространстве. Белок является иницирующим элементом протеолитического каскада и в то же время эффектором в передаче стрессового сигнала в геном (Schlieker et al., 2004). У млекопитающих аналог этого фермента, названный Omi/HtrA2, является убиквитиновым белком, выполняющим проапоптотическую функцию (Suzuki et al., 2001). Этот протеин интересен тем, что может участвовать в передаче апоптотического сигнала как по каспазозависимому, так и по каспазозависимому пути. В первом случае Omi/HtrA2 реализует свою функцию через связывание ингибиторов апоптотических белков IAPs (Suzuki et al., 2001), во втором — посредством проявления серин-протеазной активности.

В структуру Omi/HtrA2 млекопитающих входят каталитический серин-протеазный домен и высококонсервативный регуляторный PDZ-домен. В неактивной форме фермент существует в форме мономера. При взаимодействии с субстратом конформация белка меняется, он связывается со своими молекулярными партнерами и приобретает форму гомотримера. В этой форме белок ак-

тивен, способен к ядерной транслокации и расщеплению субстрата (Li et al., 2002). У дрожжей *S. cerevisiae* белок Nma111 (nuclear mediator apoptosis), являющийся гомологом HtrA бактерий, содержит четыре PDZ-домена, из которых по крайней мере один участвует в деградативном процессе (Ponting, 1997). Этот сигнальный белок с двойной функцией имеет ядерную локализацию и активируется в условиях клеточного стресса. После индукции апоптоза белок Nma111 в ядре агрегирует со своими партнерами — аналогичными белками Nma111 — и в этой форме становится способным к взаимодействию с субстратом (Fahrenkrog et al., 2004). Интересно, что клетки *S. cerevisiae* содержат белок Bir1, являющийся гомологом ингибирующего апоптоз белка XIAP млекопитающих (Yoon, Carbon, 1999), однако взаимодействия между этим белком и Nma111 не установлено. Обнаружено, что Bir1 участвует в процессе сегрегации хромосом через прямое взаимодействие с кинетофорными белками. Функциональное значение белка Bir1 и входящих в его структуру BIR-доменов в развитии апоптоза не определено. У дрожжей Bir1, играя важную роль в процессе ядерного деления, скорее всего и не принимает участия в апоптотическом процессе, но с эволюционной точки зрения его значение трудно переоценить, ведь именно у этого белка впервые в эволюции появляются классические BIR-домены, типичные для клеточных ингибиторов апоптоза (Verhagen et al., 2001). Эти домены, входящие в структуру многих IAPs (inhibitor of apoptosis proteins), в ходе дальнейшего развития механизмов ПСК становятся функционально активными и приобретают способность к целенаправленному связыванию с каспазами, блокируя их активные сайты (Huang et al., 2001).

Из известных митохондриальных проапоптотических белков прокариотического происхождения наиболее изученным является белок AIF, являющийся у *Metazoa* фактором, индуцирующим апоптоз (apoptosis-inducing factor). AIF освобождается из митохондрий под действием апоптотических сигналов, перемещается из цитоплазмы в ядро, где вызывает конденсацию хроматина и олигонуклеосомную фрагментацию ДНК (Daugas et al., 2000; Susin et al., 2000). Некоторое время механизм действия AIF связывали с наличием в его структуре высококонсервативного NADH-оксидоредуктазного домена (Susin et al., 1999, 2000), однако в дальнейшем было показано, что апоптогенное действие белка не связано с проявлением оксидазной активности фермента (Miramar et al., 2001). В развитии апоптоза этот домен играет лишь косвенную роль, участвуя в генерации АФК — индукторов апоптоза — в условиях клеточного стресса. Прямое апоптотическое действие AIF у многоклеточных организмов связано с наличием в С-терминальном домене фермента мотива PEST, который вовлекается в процесс ядерной деградации (Dumont et al., 2000). У одноклеточных эукариот проявление апоптогенных свойств AIF-подобных белков, по-видимому, обусловлено наличием собственной ДНКазной активности фермента.

Анализ биохимических свойств рекомбинантного белка AIF1r из дрожжей *S. cerevisiae*, являющегося гомологом AIF млекопитающих, показал, что ДНКазная активность фермента проявляется в результате рефолдинга белка и исчезает после его температурной обработки при 100 °C (Wissing et al., 2004). Авторами цитируемой работы показано, что способность AIF1r вызывать деградацию ДНК не зависит от FAD и NADH-оксидоредуктазной активности фермента. Так же

как и у млекопитающих, у дрожжей этот белок инициирует апоптоз. Однако в отличие от апоптоза в клетках млекопитающих апоптоз у дрожжей не сопровождается межнуклеосомной фрагментацией ДНК. Суть этого различия, по-видимому, состоит в отсутствии у протистов линкерной ДНК (Lowary, Widom, 1989). Возможно, именно такая особенность хроматиновой организации ядра в клетках низших эукариот лежит в основе структурно-функциональных различий параптоза и классического апоптоза, морфологические признаки которого впервые в эволюции появились лишь у примитивных многоклеточных (Cikala et al., 1999; Seipp et al., 2001).

Белок AIF из клеток миксомицетов *D. discoideum*, названный DdAIF, на 30 % идентичен и на 60 % сходен со своим гомологом из клеток человека (Arnoult et al., 2001). Сходна и доменная организация сравниваемых белков. Как и AIF человека, DdAIF имеет участки связывания с митохондриями (сайты MLS) и ядром (сайты NLS), ДНК-связывающий домен, расположенный в С-терминальной части молекулы, и простетические группы NAD и FAD (Arnoult et al., 2001). DdAIF локализуется в митохондриях и освобождается из них под действием стрессового сигнала, приводящего к развитию апоптозоподобной клеточной смерти (параптозу). Эта форма клеточной смерти описана впервые у миксомицетов Корниллоном и соавторами (Cornillon et al., 1994). В природных условиях она индуцируется сAMP в сочетании с DIF-1 (Cornillon et al., 1994), в экспериментальных — соединением PPIX или актиномицином (Arnoult et al., 2001). Развитие параптоза у *D. discoideum* сопровождается перемещением DdAIF из цитоплазмы в ядро. Обладает ли белок специфической ДНКазной активностью, пока неизвестно. Однако то, что DdAIF является эффектором ядерной деградации, несомненно уже сейчас. На это указывают по крайней мере два наблюдения, сделанные авторами цитируемой работы: во-первых, цитоплазматические экстракты из мертвых миксомицетов способны вызывать расщепление ядерной ДНК; во-вторых, поликлональные антитела против DdAIF защищают клетки от деградации ядерной ДНК и соответственно предотвращают развитие параптоза. Таким образом, полученные авторами данные согласуются с идеей о том, что митохондрии и освобождаемый из них белок AIF являются высококонсервативными элементами каспазозависимого механизма ПСК — эволюционного предшественника каспазного пути.

В заключение этого раздела следует подчеркнуть, что еще очень мало известно о каспазозависимых путях передачи апоптотических сигналов в клетках низших эукариот. У протистов могут быть свои собственные митохондриальные индукторы апоптоза, отличные от AIF, EndoG и Omi/HtrA2 млекопитающих, и соответственно иные механизмы реализации ПСК, поэтому о структурно-функциональном сходстве этих трансдукционных путей в клетках высших и низших эукариот можно судить лишь с большой осторожностью.

Заключение

Апоптоз — генетически программируемая клеточная гибель — широко распространен в клетках животных разного уровня организации, включая одноклеточных эукариот. Впервые в эволюции ПСК возникла у прокариот как механизм противовирусной защиты популяций и

была закреплена у одноклеточных эукариот. В ходе прогрессивного развития у эукариотических микроорганизмов появляются морфологические и биохимические признаки апоптоза, характерные для классического апоптоза, имеющего место в клетках высших эукариот.

У протистов впервые в эволюции возникают элементы апоптотического механизма, свойственного клеткам Metazoa, и соответственно гомологичные сигнальные пути, обеспечивающие передачу апоптотических сигналов из цитоплазмы в ядро. Все еще мало известно о том, как передаются сигналы, запускающие апоптоз, с клеточной поверхности в ядро. Рецепторы, подобные «рецепторам смерти», обнаружены пока только у одного рода простейших (Jaso-Friedmann et al., 2000). Возможно, у микроорганизмов существуют иные механизмы трансмембранной передачи сигналов, инициирующих запуск программы клеточного самоубийства, отличные от таковых в клетках высших эукариот. Можно предположить, что внешние сигналы, приводящие в конечном счете к гибели клеток, первоначально трансформируются в сигналы, индуцирующие клеточный стресс. В этом случае ключевая роль в индукции апоптоза у микроорганизмов принадлежит АФК и ионам Ca^{2+} , способным к прямому взаимодействию с транспортными цепями митохондрий. Нарушение митохондриального мембранного потенциала — центральное звено в развитии апоптоза как у высших, так и у низших организмов. Каким образом происходит дальнейшая передача суицидного сигнала, совершенно неясно, неизвестно и о транскрипционной регуляции апоптоза у микроорганизмов. Возможно, в реализации программы смерти у протистов все еще принимают участие сериновые протеазы, как у прокариот, либо эту функцию выполняют другие ферменты, способные к ядерной транслокации и обладающие ДНКазной активностью. Примеры таких типов эффекторов апоптоза у эукариотических микроорганизмов имеются и приведены в обзоре. У более совершенных одноклеточных организмов — дрожжей — появляются элементы каспазного механизма с комплексом белков, обеспечивающих их тонкую регуляцию. На функциональную роль этих белков в апоптотическом механизме указывает их активность в отношении гомологичных субстратов из клеток млекопитающих.

По-видимому, развитие механизмов ПСК шло по пути постепенного прогресса отдельных элементов передачи апоптотических сигналов, первоначально возникших в клетках простейших. У этих организмов впервые формируется каспазозависимый митохондриальный апоптотический путь, сходный с таковым в клетках высших эукариот. Затем в ходе эволюционного процесса происходило совершенствование молекулярных основ передачи суицидных сигналов, появлялись новые структурные элементы, в конце концов подготовившие почву для возникновения каспазного каскада и ядерного контроля над ним.

Многие аспекты проблемы происхождения ПСК пока неясны. Однако быстрые темпы развития молекулярной и эволюционной биологии позволяют надеяться, что уже в скором времени мы получим ответы на интересующие нас вопросы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 03-04-49495).

Список литературы

- Abraham M. C., Shaham S. 2004. Death without caspases, caspases without death. *Trends Cell Biol.* 14 : 184—193.
- Al-Olayan E. M., Williams G. T., Hurd H. 2003. Apoptosis in the malaria protozoan, *Plasmodium berghei*: a possible mechanism for limiting intensity of infection in the mosquito. *Int. J. Parasitol.* 33 : 105—107.
- Ameisen J. C. 2002. On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years. *Cell Death Differ.* 9 : 367—393.
- Ameisen J. C., Idziorek T., Billaut-Mulot O., Louens M., Tissier J. P., Potentier A., Ouassii M. A. 1995. 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.* 2 : 285—300.
- Arnoult D., Akarid K., Grodet A., Petit P. X., Estaquier J., Ameisen J. C. 2002. On the evolution of programmed cell death: apoptosis of the nuclear eukaryote *Leishmania major* involves cysteine proteinase activation and mitochondrion permeabilization. *Cell Death Differ.* 9 : 65—81.
- Arnoult D., Tatischeff I., Estaquier J., Girard M., Sureau F., Tissier J. P., Grodet A., Dellinger M., Traincard F., Kahn A., Ameisen J. C., Petit P. X. 2001. On the evolutionary conservation of the cell death pathway: mitochondrial release of an apoptosis-inducing factor during *Dictyostelium discoideum* cell death. *Mol. Biol. Cell.* 12 : 3016—3030.
- Aubry L., Mattei S., Blot B., Sadoul R., Satre M., Klein G. 2002. Biochemical characterization of two analogues of the apoptosis-linked gene 2 protein in *Dictyostelium discoideum* and interaction with a physiological partner in mammals, murine *Alix*. *J. Biol. Chem.* 277 : 21 947—21 954.
- Bera A., Singh S., Nagaraj R., Vaidya T. 2003. Induction of autophagic cell death in *Leishmania donovani* by antimicrobial peptides. *Mol. Biochem. Parasitol.* 127 : 23—35.
- Bidere N., Senik A. 2001. Caspase-independent apoptotic pathways in T lymphocytes: a minireview. *Apoptosis.* 6 : 371—375.
- Burhans W. C., Weinberger M., Marchetti M. A., Ramachandran L., D'Urso G., Huberman J. A. 2003. Apoptosis-like yeast cell death in response to DNA damage and replication defects. *Mutat. Res.* 532 : 227—243.
- Castedo M., Ferri K., Roumier T., Metivier D., Zamzami N., Kroemer G. 2002. Quantitation of mitochondrial alterations associated with apoptosis. *J. Immunol. Methods.* 265 : 39—47.
- Chereau D., Zou H., Spada A. P., Wu J. C. 2005. A nucleotide binding site in caspase-9 regulates apoptosome activation. *Biochemistry.* 44 : 4971—4976.
- Chiang P. C., Chien C. L., Pan S. L., Chen W. P., Teng C. M., Shen Y. C., Guh J. H. 2005. Induction of endoplasmic reticulum stress and apoptosis by a marine prostanoid in human hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.* 43 : 679—686.
- Christensen S. T., Chemnitz J., Straarup E. M., Kristiansen K., Wheatley D. N., Rasmussen L. 1998. Staurosporine-induced cell death in *Tetrahymena thermophila* has mixed characteristics of both apoptotic and autophagic generation. *Cell Biol. Int.* 22 : 591—598.
- Christensen S. T., Sorensen H., Beyer N. H., Kristiansen K., Rasmussen L., Rasmussen M. I. 2001. Cell death in *Tetrahymena thermophila*: new observations on culture conditions. *Cell Biol. Int.* 25 : 509—519.
- Cikala M., Wilm B., Hobmayer E., Bottger A., David C. N. 1999. Identification of caspases and apoptosis in the simple metazoan *Hydra*. *Curr. Biol.* 9 : 959—962.
- Cornillon S., Foa C., Davoust J., Buonavista N., Gross J. D., Golstein P. 1994. Programmed cell death in *Dictyostelium*. *J. Cell Sci.* 107 : 2691—2704.
- Croall D. E., DeMartino G. N. 1991. Calcium-activated neutral protease (calpain) system: structure, function, and regulation. *Physiol. Rev.* 71 : 813—847.
- Das M., Mukherjee S. B., Shaha C. 2001. Hydrogen peroxide induces apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes. *J. Cell Sci.* 114 : 2461—2469.
- Daugas E., Susin S. A., Zamzami N., Ferri K. F., Irinopoulou T., Larochette N., Prevost M. C., Leber B., Andrews D., Penninger J., Kroemer G. 2000. Mitochondrio-nuclear translocation of AIF in apoptosis and necrosis. *FASEB J.* 14 : 729—739.
- Debrabant A., Lee N., Bertholet S., Duncan R., Nakhasi H. L. 2003. Programmed cell death in trypanosomatids and other unicellular organisms. *Int. J. Parasitol.* 33 : 257—267.
- Dumont C., Durrbach A., Bidere N., Rouleau M., Kroemer G., Bernard G., Hirsch F., Charpentier B., Susin S. A., Senik A. 2000. Caspase-independent commitment phase to apoptosis in activated blood T lymphocytes: reversibility at low apoptotic insult. *Blood.* 96 : 1030—1038.
- Dupere-Minier G., Hamelin C., Desharnais P., Bernier J. 2004. Apoptotic volume decrease, pH acidification and chloride channel activation during apoptosis requires CD45 expression. *Apoptosis.* 9 : 543—551.
- Eastman A. 1995a. Survival factors, intracellular signal transduction, and the activation of endonucleases in apoptosis. *Semin. Cancer Biol.* 6 : 45—52.
- Eastman A. 1995b. Assays for DNA fragmentation, endonucleases, and intracellular pH and Ca²⁺ associated with apoptosis. *Methods Cell Biol.* 46 : 41—55.
- Ejercito M., Wolfe J. 2003. Caspase-like activity is required for programmed nuclear elimination during conjugation in *Tetrahymena*. *J. Eukaryot. Microbiol.* 50 : 427—429.
- Fahrenkrog B., Sauder U., Aebi U. 2004. The *S. cerevisiae* HtrA-like protein Nma111p is a nuclear serine protease that mediates yeast apoptosis. *J. Cell Sci.* 117 : 115—126.
- Figarella K., Rawer M., Uzcategui N. L., Kubata B. K., Lauber K., Madeo F., Wesselborg S., Duzsenko M. 2005. Prostaglandin D2 induces programmed cell death in *Trypanosoma brucei* bloodstream form. *Cell Death Differ.* 12 : 335—346.
- Giannattasio S., Guaragnella N., Corte-Real M., Passarella S., Marra E. 2005. Acid stress adaptation protects *Saccharomyces cerevisiae* from acetic acid-induced programmed cell death. *Gene.* 354 : 93—98.
- Green D. R. 1998. Apoptosis. Death deceiver. *Nature.* 396 : 629—630.
- Green D. R. 2005. Apoptotic pathways: ten minutes to dead. *Cell.* 121 : 671—674.
- Gross A., Pilcher K., Blachly-Dyson E., Basso E., Jockel J., Bassik M. C., Korsmeyer S. J., Forte M. 2000. Biochemical and genetic analysis of the mitochondrial response of yeast to BAX and BCL-X(L). *Mol. Cell. Biol.* 20 : 3125—3136.
- Herker E., Jungwirth H., Lehmann K. A., Maldener C., Frohlich K. U., Wissing S., Buttner S., Fehr M., Sigrist S., Madeo F. 2004. Chronological aging leads to apoptosis in yeast. *J. Cell Biol.* 164 : 501—507.
- Hickey E. J., Raje R. R., Reid V. E., Gross S. M., Ray S. D. 2001. Diclofenac induced *in vivo* nephrotoxicity may involve oxidative stress-mediated massive genomic DNA fragmentation and apoptotic. *Free Radic. Biol. Med.* 31 : 139—152.
- Hofmann K., Bucher P., Tschopp J. 1997. The CARD domain: a new apoptotic signalling motif. *Trends Biochem. Sci.* 22 : 155—156.
- Holzmuller P., Sereno D., Cavaleyra M., Mangot I., Daulouede S., Vincendeau P., Lemesre J. L. 2002. Nitric oxide-mediated proteasome-dependent oligonucleosomal DNA fragmentation in *Leishmania amazonensis* amastigotes. *Infect Immun.* 70 : 3727—3735.
- Huang Y., Park Y. C., Rich R. L., Segal D., Myszka D. G., Wu H. 2001. Structural basis of caspase inhibition by XIAP: differential roles of the linker versus the BIR domain. *Cell.* 104 : 781—790.
- Ikeda S., Kawasaki N. 2001. Isolation and characterization of the *Schizosaccharomyces pombe* cDNA encoding the mitochondrial endonuclease(1). *Biochim. biophys. acta.* 1519 : 111—116.
- Irvine R. A., Adachi N., Shibata D. K., Cassell G. D., Karanjawala Z. E., Hsieh C. L., Lieber M. R. 2005. Generation and characterization of endonuclease G null mice. *Mol. Cell. Biol.* 25 : 294—302.
- Jaso-Friedmann L., Leary J. H., 3rd, Evans D. L. 2000. Role of nonspecific cytotoxic cell in the induction of programmed cell

death of pathogenic protozoans: participation of the Fas ligand-Fas receptor system. *Exp. Parasitol.* 96 : 75—88.

Johnson D. E. 2000. Noncaspase proteases in apoptosis. *Leukemia*. 14 : 1695—1703.

Kang Y. H., Yi M. J., Kim M. J., Park M. T., Bae S., Kang C. M., Cho C. K., Park I. C., Park M. J., Rhee C. H., Hong S. I., Chung H. Y., Lee Y. S., Lee S. J. 2004. Caspase-independent cell death by arsenic trioxide in human cervical cancer cells: reactive oxygen species-mediated poly (ADP-ribose) polymerase-1 activation signals apoptosis-inducing factor release from mitochondria. *Cancer Res.* 64 : 8960—8967.

Kobayashi T., Endoh H. 2003. Caspase-like activity in programmed nuclear death during conjugation of *Tetrahymena thermophila*. *Cell Death Differ.* 10 : 634—640.

Koonin E. V., Aravind L. 2002. Origin and evolution of eukaryotic apoptosis: the bacterial connection. *Cell Death Differ.* 9 : 394—404.

Kroemer G. 2003. Mitochondrial control of apoptosis: an introduction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 304 : 433—435.

Lamkanfi M., Declercq W., Kalai M., Saelens X., Vandenberghe P. 2002. Alice in caspase land. A phylogenetic analysis of caspases from worm to man. *Cell Death Differ.* 9 : 358—361.

Lee N., Bertholet S., Debrabant A., Muller J., Duncan R., Nakhshi H. L. 2002. Programmed cell death in the unicellular protozoan parasite *Leishmania*. *Cell Death Differ.* 9 : 53—64.

Levraud J. P., Adam M., Luciani M. F., de Chastellier C., Blanton R. L., Golstein P. 2003. *Dictyostelium* cell death: early emergence and demise of highly polarized paddle cells. *J. Cell Biol.* 160 : 1105—1114.

Li L. Y., Luo X., Wang X. 2001. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature*. 412 : 95—99.

Li P., Nijhawan D., Budihardjo I., Srinivasula S. M., Ahmad M., Alnemri E. S., Wang X. 1997. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell*. 91 : 479—489.

Li W., Srinivasula S. M., Chai J., Li P., Wu J. W., Zhang Z., Alnemri E. S., Shi Y. 2002. Structural insights into the pro-apoptotic function of mitochondrial serine protease HtrA2/Omi. *Nat. Struct. Biol.* 9 : 436—441.

Lieber M. R. 2005. Generation and characterization of endonuclease G null mice. *Mol. Cell Biol.* 25 : 294—302.

Ligr M., Madeo F., Frohlich E., Hilt W., Frohlich K. U., Wolf D. H. 1998. Mammalian Bax triggers apoptotic changes in yeast. *FEBS Lett.* 438 : 61—65.

Madeo F., Herker E., Maldener C., Wissing S., Lachelt S., Herlan M., Fehr M., Lauber K., Sigrist S. J., Wesselborg S., Frohlich K. U. 2002. A caspase-related protease regulates apoptosis in yeast. *Mol. Cell*. 9 : 911—917.

Madeo F., Herker E., Wissing S., Jungwirth H., Eisenberg T., Frohlich K. U. 2004. Apoptosis in yeast. *Curr. Opin. Microbiol.* 7 : 655—660.

Mamani-Matsuda M., Rambert J., Malvy D., Lejoly-Boisseau H., Daulouede S., Thiolat D., Coves S., Courtois P., Vincendeau P., Mossalayi M. D. 2004. Quercetin induces apoptosis of *Trypanosoma brucei* gambiense and decreases the proinflammatory response of human macrophages. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48 : 924—929.

Mariante R. M., Guimaraes C. A., Linden R., Benchimol M. 2003. Hydrogen peroxide induces caspase activation and programmed cell death in the amitochondrial *Tritrichomonas foetus*. *Histochem. Cell Biol.* 120 : 129—141.

Mehta A., Shaha C. 2004. Apoptotic death in *Leishmania donovani* promastigotes in response to respiratory chain inhibition: complex II inhibition results in increased pentamidine cytotoxicity. *J. Biol. Chem.* 279 : 11 798—11 813.

Mendoza L., Orozco E., Rodriguez M. A., Garcia-Rivera G., Sanchez T., Garcia E., Gariglio P. 2003. Ehp53, an *Entamoeba histolytica* protein, ancestor of the mammalian tumour suppressor p53. *Microbiology*. 149 : 885—893.

Miramar M. D., Costantini P., Ravagnan L., Saraiva L. M., Haouzi D., Brothers G., Penninger J. M., Peleato M. L., Kroe-

mer G., Susin S. A. 2001. NADH oxidase activity of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *J. Biol. Chem.* 276 : 16 391—16 398.

Mishra N. C., Kumar S. 2005. Apoptosis: a mitochondrial perspective on cell death. *Indian J. Exp. Biol.* 43 : 25—34.

Moreira M. E., Del Portillo H. A., Milder R. V., Balanco J. M., Barcinski M. A. 1996. Heat shock induction of apoptosis in promastigotes of the unicellular organism *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *J. Cell. Physiol.* 167 : 305—313.

Mukherjee S. B., Das M., Sudhandiran G., Shada C. 2002. Increase in cytosolic Ca²⁺ levels through the activation of non-selective cation channels induced by oxidative stress causes mitochondrial depolarization leading to apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes. *J. Biol. Chem.* 277 : 24 717—24 727.

Muzio M. 1998. Signalling by proteolysis: death receptors induce apoptosis. *Int. J. Clin. Lab. Res.* 28 : 141—147.

Nakano K., Vousden K. H. 2001. PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53. *Mol. Cell*. 7 : 683—694.

Nasirdeen A. M., Hian Y. E., Singh M., Tan K. S. 2004. Metronidazole induces programmed cell death in the protozoan parasite *Blastocystis hominis*. *Microbiology*. 150 : 33—43.

Nasirdeen A. M., Singh M., Yap E. H., Tan K. S. 2001. *Blastocystis hominis*: evidence for caspase-3-like activity in cells undergoing programmed cell death. *Parasitol. Res.* 87 : 559—565.

Nasirdeen A. M., Tan K. S. 2004. Caspase-3-like protease influences but is not essential for DNA fragmentation in *Blastocystis* undergoing apoptosis. *Eur. J. Cell Biol.* 83 : 477—482.

Nasirdeen A. M., Tan K. S., Singh M., Yap E. H. 2001. Programmed cell death in a human intestinal parasite, *Blastocystis hominis*. *Parasitology*. 123 : 235—246.

Nicotera P., Orrenius S. 1998. The role of calcium in apoptosis. *Cell Calcium*. 23 : 173—180.

Ohkouchi S., Nishio K., Maeda M., Hitomi K., Adachi H., Maki M. 2001. Identification and characterization of two penta-EF-hand Ca²⁺-binding proteins in *Dictyostelium discoideum*. *J. Biochem.* 130 : 207—215.

Okada Y., Maeno E. 2001. Apoptosis, cell volume regulation and volume-regulatory chloride channels. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 130 : 377—383.

Okamoto O. K., Hastings J. W. 2003. Genome-wide analysis of redox-regulated genes in a dinoflagellate. *Gene*. 321 : 73—81.

Olie R. A., Durrieu F., Cornillon S., Loughran G., Gross J., Earnshaw W. C., Golstein P. 1998. Apparent caspase independence of programmed cell death in *Dictyostelium*. *Curr. Biol.* 8 : 955—958.

Parrish J., Li L., Klotz K., Ledwich D., Wang X., Xue D. 2001. Mitochondrial endonuclease G is important for apoptosis in *C. elegans*. *Nature*. 412 : 90—94.

Picot S., Burnod J., Bracchi V., Chumpitazi B. F., Ambroise-Thomas P. 1997. Apoptosis related to chloroquine sensitivity of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 91 : 590—591.

Ponting C. P. 1997. Evidence for PDZ domains in bacteria, yeast, and plants. *Protein Sci.* 6 : 464—468.

Reiter J., Herker E., Madeo F., Schmitt M. J. 2005. Viral killer toxins induce caspase-mediated apoptosis in yeast. *J. Cell Biol.* 168 : 353—358.

Renatus M., Stennicke H. R., Scott F. L., Liddington R. C., Salvesen G. S. 2001. Dimer formation drives the activation of the cell death caspase 9. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 98 : 14 250—14 255.

Richter C., Gogvadze V., Laffranchi R., Schlappbach R., Schweizer M., Suter M., Walter P., Yaffee M. 1995. Oxidants in mitochondria: from physiology to diseases. *Biochim. biophys. acta.* 1271 : 67—74.

Ridgley E. L., Xiong Z. H., Ruben L. 1999. Reactive oxygen species activate a Ca²⁺-dependent cell death pathway in the unicellular organism *Trypanosoma brucei brucei*. *Biochem. J.* 340 : 33—40.

Roisin-Bouffay C., Luciani M. F., Klein G., Levraud J. P., Adam M., Golstein P. 2004. Developmental cell death in *Dictyostelium* does not require paracaspase. *J. Biol. Chem.* 279 : 11 489—11 494.

- Roy S., Nicholson D. W. 2000. Cross-talk in cell death signaling. *J. Exp. Med.* 192 : F21—F25.
- Schlieker C., Mogk A., Bukau B. 2004. A PDZ switch for a cellular stress response. *Cell.* 117 : 417—419.
- Schweichel J. U., Merker H. J. 1973. The morphology of various types of cell death in prenatal tissues. *Teratology.* 7 : 253—266.
- Seipp S., Schmich J., Leitz T. 2001. Apoptosis — a death-inducing mechanism tightly linked with morphogenesis in *Hydractina echinata* (Cnidaria, Hydrozoa). *Development.* 128 : 4891—4898.
- Sen N., Das B. B., Ganguly A., Mukherjee T., Bandyopadhyay S., Majumber H. K. 2004a. Camptothecin-induced imbalance in intracellular cation homeostasis regulates programmed cell death in unicellular hemoflagellate *Leishmania donovani*. *J. Biol. Chem.* 279 : 52 366—52 375.
- Sen N., Das B. B., Ganguly A., Mukherjee T., Tripathi G., Bandyopadhyay S., Rakshit S., Sen T., Majumber H. K. 2004b. Camptothecin induced mitochondrial dysfunction leading to programmed cell death in unicellular hemoflagellate *Leishmania donovani*. *Cell Death Differ.* 11 : 924—936.
- Severin F. F., Hyman A. A. 2002. Pheromone induces programmed cell death in *S. cerevisiae*. *Curr. Biol.* 12 : R233—R235.
- Shimizu S., Shinohara Y., Tsujimoto Y. 2000. Bax and Bcl-xL independently regulate apoptotic changes of yeast mitochondria that require VDAC but not adenine nucleotide translocator. *Oncogene.* 19 : 4309—4318.
- Shiozaki E. N., Chai J., Shi Y. 2002. Oligomerization and activation of caspase-9, induced by Apaf-1 CARD. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 99 : 4197—4202.
- Sigrist S. J., Wesselborg S., Frohlich K. U. 2002. A caspase-related protease regulates apoptosis in yeast. *Mol. Cell.* 9 : 911—917.
- Skulachev V. P. 2002. Programmed death in yeast as adaptation? *FEBS Lett.* 528 : 23—26.
- Stennicke H. R., Deveraux Q. L., Humke E. W., Reed J. C., Dixit V. M., Salvesen G. S. 1999. Caspase-9 can be activated without proteolytic processing. *J. Biol. Chem.* 274 : 8359—8362.
- Stennicke H. R., Salvesen G. S. 1999. Catalytic properties of the caspases. *Cell Death Differ.* 6 : 1054—1059.
- Susin S. A., Daugas E., Ravagnan L., Samejima K., Zamzami N., Loeffler M., Costantini P., Ferri K. F., Irinopoulou T., Prevost M. C., Brothers G., Mak T. W., Penninger J., Earnshaw W. C., Kroemer G. 2000. Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis. *J. Exp. Med.* 192 : 571—580.
- Susin S. A., Lorenzo H. K., Zamzami N., Marzo I., Snow B. E., Brothers G. M., Mangion J., Jacotot E., Costantini P., Loeffler M., Larochette N., Goodlett D. R., Aebersold R., Siderovski D. P., Penninger J. M., Kroemer G. 1999. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature.* 397 : 441—446.
- Suzuki Y., Imai Y., Nakayama H., Takahashi K., Takio K., Takahashi R. 2001. A serine protease, HtrA2, is released from the mitochondria and interacts with XIAP, inducing cell death. *Mol. Cell.* 8 : 613—621.
- Szallies A., Kubata B. K., Duszenko M. 2002. A metacaspase of *Trypanosoma brucei* causes loss of respiration competence and clonal death in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett.* 517 : 144—150.
- Tan K. S., Howe J., Yap E. H., Singh M. 2001. Do *Blastocystis hominis* colony forms undergo programmed cell death? *Parasitol. Res.* 87 : 362—367.
- Tan S., Sagara Y., Liu Y., Maher P., Schubert D. 1998. The regulation of reactive oxygen species production during programmed cell death. *J. Cell Biol.* 141 : 1423—1432.
- Tanaka K. I., Tomisato W., Hoshino T., Ishihara T., Namba T., Aburaya M., Katsu T., Suzuki K., Tsutsumi S., Mizushima T. 2005. Involvement of intracellular Ca²⁺ levels in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 289 : 31 059—31 067.
- Urbano A., McCaffrey R., Foss F. 1998. Isolation and characterization of NUC70, a cytoplasmic, hepatopoietic apoptotic endonuclease. *J. Biol. Chem.* 273 : 34 820—34 827.
- Uren A. G., O'Rourke K., Aravind L. A., Pisabarro M. T., Seshagiri S., Koonin E. V., Dixit V. M. 2000. Identification of paracaspases and metacaspases: two ancient families of caspase-like proteins, one of which plays a key role in MALT lymphoma. *Mol. Cell.* 6 : 961—967.
- Vachova L., Palkova Z. 2005. Physiological regulation of yeast cell death in multicellular colonies is triggered by ammonia. *J. Cell Biol.* 169 : 711—717.
- Vardi A., Berman-Frank I., Rozenberg T., Hadas O., Kaplan A., Levine A. 1999. Programmed cell death of the dinoflagellate *Peridinium gatunense* is mediated by CO₂ limitation and oxidative stress. *Curr. Biol.* 9 : 1061—1064.
- Verhagen A. M., Coulson E. J., Vaux D. L. 2001. Inhibitor of apoptosis proteins and their relatives: IAPs and other BIRPs. *Genome Biol.* 2 : 3009.
- Vincent R. D., Hofmann T. J., Zassenhaus H. P. 1988. Sequence and expression of NUC1, the gene encoding the mitochondrial nuclease in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucl. Acids Res.* 16 : 3297—3312.
- Vousden K. H., Woude G. F. 2000. The ins and outs of p53. *Nat. Cell Biol.* 2 : E178—E180.
- Welburn S. C., Dale C., Ellis D., Beecroft R., Pearson T. W. 1996. Apoptosis in procyclic *Trypanosoma brucei rhodesiense* in vitro. *Cell Death Differ.* 3 : 229—236.
- Welburn S. C., Lillico S., Murphy N. B. 1999. Programmed cell death in procyclic form *Trypanosoma brucei rhodesiense* — identification of differentially expressed genes during con A induced death. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 94 : 229—234.
- Wiens M. 2004. Fundamental mechanisms of apoptosis in the simplest invertebrates, the Porifera. *Z. Gerontol. Geriatr.* 37 : 190—199.
- Wissing S., Ludovico P., Herker E., Buttner S., Engelhardt S. M., Decker T., Link A., Proksch A., Rodrigues F., Corte-Real M., Frohlich K. U., Manns J., Cande C., Sigrist S. J., Kroemer G., Madeo F. 2004. An AIF orthologue regulates apoptosis in yeast. *J. Cell Biol.* 166 : 969—974.
- Wu Y., Wang X., Liu X., Wang Y. 2003. Data-mining approaches reveal hidden families of proteases in the genome of malaria parasite. *Genome Res.* 13 : 601—616.
- Yamaki M., Umehara T., Chimura T., Horikoshi M. 2001. Cell death with predominant apoptotic features in *Saccharomyces cerevisiae* mediated by deletion of the histone chaperone ASF1/CIA1. *Genes Cells.* 6 : 1043—1054.
- Yoon H. J., Carbon J. 1999. Participation of Bir1p, a member of the inhibitor of apoptosis family, in yeast chromosome segregation events. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 96 : 13 208—13 213.
- Zamzami N., Kroemer G. 2003. Apoptosis: mitochondrial membrane permeabilization — the (w)hole story? *Curr. Biol.* 13 : R71—R73.
- Zamzami N., Marchetti P., Castedo M., Zanin C., Vayssiere J. L., Petit P. X., Kroemer G. 1995. Reduction in mitochondrial potential constitutes an early irreversible step of programmed lymphocyte death in vivo. *J. Exp. Med.* 181 : 1661—1672.
- Zoratti M., Szabo I. 1995. The mitochondrial permeability transition. *Biochim. biophys. acta.* 1241 : 139—176.
- Zou H., Henzel W. J., Liu X., Lutschg A., Wang X. 1997. Apaf-1, a human protein homologous to *C. elegans* CED-4, participates in cytochrome *c*-dependent activation of caspase-3. *Cell.* 90 : 405—413.

PATHWAYS OF TRANSDUCTION OF APOPTOTIC SIGNALS IN UNICELLULAR EUKARYOTES

I. V. Schemarova

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAN, St. Petersburg;
e-mail: irina@lis.mail.iephb.ru

The review summarizes current data about transduction mechanism of apoptotic signals by caspase-like enzymes and mitochondrial apoptogenic proteins in unicellular eukaryotes. The role of receptor-dependent and receptor-independent caspase cascades is reviewed. The special attention is given to evolution aspects of problem of apoptosis.

Key words: unicellular eukaryotes, intracellular signaling, cell stress, ROS, apoptosis, caspases.
