

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΜΕΝΟΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ: ΕΙΔΗ,
ΡΥΘΜΙΣΗ & ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗ ΝΟΣΟ»

ΠΑΛΙΑΛΕΞΗ – ΚΥΠΡΙΑΝΙΔΟΥ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ

ΒΙΟΛΟΓΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τραχανά Βαρβάρα, Επίκουρη Καθηγήτρια Κυτταρικής Βιολογίας, Επιβλέπουσα

Παπαθανασίου Ιωάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Βιολογίας, Μέλος

Δήμας Κωνσταντίνος, Καθηγητής Φαρμακολογίας, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2023

UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

FACULTY OF MEDICINE



POSTGRADUATE MASTER PROGRAM

“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”

MASTER’S THESIS

**«PROGRAMMED CELL DEATH: TYPES, REGULATION & CONTRIBUTION TO
DISEASE»**

PALIALEXI - KYPRIANIDOU ANASTASIA

BIOLOGIST

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2022-2023 στο Εργαστήριο Κυτταρογενετικής και Μοριακής Γενετικής του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη της κα. Τραχανά Βαρβάρας, επίκουρης καθηγήτριας Κυτταρικής Βιολογίας του τμήματος Ιατρικής, στην οποία οφείλω θερμές ευχαριστίες για τις συμβουλές, την στήριξη και την καθοδήγησή της.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Τσέζου Ασπασία, καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής και επιστημονικά υπεύθυνη του μεταπτυχιακού προγράμματος, για την ευκαιρία που μου έδωσε να παρακολουθήσω το συγκεκριμένο πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών.

Επίσης, θερμές ευχαριστίες οφείλω στην μητέρα μου, Dr. Παλιαλέξη Λεμονιά, ιατρό Αναισθησιολόγο, Διευθύντρια του Αναισθησιολογικού τμήματος του Γενικού Νοσοκομείου Λαμίας, για την αγάπη και τη συμπαράσταση της, καθώς και για το γεγονός ότι σε όλη την ακαδημαϊκή και επαγγελματική μου πορεία αποτελεί για εμένα πρότυπο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Ζέρβα Ιωάννη, Ομότιμο Καθηγητή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, ή, για εμένα, τον παππού Γιάννη, για την ηθική στήριξη του όλα αυτά τα χρόνια, ώστε να προχωράω και να εξελίσσομαι ακαδημαϊκά.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ABSTRACT.....	5
Κεφάλαιο 1 Εισαγωγή.....	7
Κεφάλαιο 2 Το ζήτημα του θανάτου και ο κυτταρικός θάνατος.....	12
2.1 Τα είδη των θανάτων.....	12
2.2 Η απόπτωση.....	21
2.3 Η αυτοφαγία.....	24
2.4 Η κυτταρική γήρανση.....	25
Κεφάλαιο 3 Η μιτωτική καταστροφή.....	30
3.1 Η τρέχουσα αντίληψη.....	33
3.2 Ελαττώματα στη μίτωση.....	35
3.3 Προσαρμογή σημείου ελέγχου και μιτωτική ολίσθηση.....	37
Κεφάλαιο 4 Σχέση του κυτταρικού θανάτου με τις νόσους και την γήρανση.....	40
4.1 Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος στην νευροεκφυλιστική νόσο.....	40
4.2 Καταστολή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου σε καρκινικά και γήρασμένα κύτταρα.....	43
4.3 Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος στη φυσιολογική ανάπτυξη των ιστών, την ομοιόσταση των ενηλίκων και την γήρανση.....	46
4.4 Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος στη ρύθμιση της διάρκειας ζωής.....	49
4.5 Λανθασμένη ρύθμιση προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου στη γήρανση.....	50
4.6 Ρόλος προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου στη γήρανση του ανθρώπου.....	52
4.7 Απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων λόγω ηλικίας.....	54
Κεφάλαιο 5 Συμπεράσματα.....	57
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	66

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο κυτταρικός θάνατος είναι μια διαδικασία που οδηγεί στη διακοπή του μεταβολισμού και της μορφολογικής ακεραιότητας ενός κυττάρου, καθώς τερματίζει αμετάκλητα όλα τα βιολογικά μονοπάτια που λαμβάνουν χώρα σε αυτό και του αποδίδουν ζωή. Ο κυτταρικός θάνατος διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στη βιολογική ανάπτυξη όλων των έμβιων όντων, αφού μόνο η ισορροπία μεταξύ της κυτταρικής ανάπτυξης (πολλαπλασιασμού) και του κυτταρικού θανάτου μπορεί να κρατήσει τον αριθμό των κυττάρων σε σταθερό επίπεδο. Οποιαδήποτε διαταραχή αυτής της ισορροπίας μπορεί να συντελέσει στην ανάπτυξη όγκων, αυτοάνοσων νοσημάτων ή εκφυλιστικών αλλαγών.

Κάθε δευτερόλεπτο, εκατομμύρια κύτταρα στο ανθρώπινο σώμα «αυτοκτονούν», προκειμένου να επιβιώσουν άλλα. Οι γιατροί αναφέρονται σε αυτή τη διαδικασία ως «απόπτωση». Αυτή η θυσιαστική και αυτοκαταστροφική διαδικασία είναι απαραίτητη για την εξάλειψη των άχρηστων, παλαιών και επικίνδυνων κυττάρων στον ανθρώπινο οργανισμό.

Λέξεις-κλειδιά: κύτταρο, κυτταρικός θάνατος, απόπτωση, αυτοάνοσα νοσήματα

ABSTRACT

Cell death is a procedure that leads to the disruption of the cell's metabolism as well as its morphological integrity by terminating irreversibly all the biological paths that occur in it and give life to it. Cell death has a key role to the biological development of all the living creatures due to the fact that only the balance between the cell's growth and its death manages to keep the number of the cells stable. Any kind of disorder at this balance might contribute to the development of tumors, autoimmune diseases or degenerative changes.

Every second, millions of cells in the human body “commit suicide” in order to survive others. The doctors refer to this procedure as apoptosis. Apoptosis is a sacrificial and self-destructive process which is necessary in order to eliminate useless, old and dangerous cells in the human body.

Key-words: cell, cell death, apoptosis, autoimmune diseases

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο κυτταρικός θάνατος είναι μία απαραίτητη διαδικασία στη ζωή ενός πολυκύτταρου οργανισμού. Χωρίζεται σε δύο κύριες κατηγορίες, την απόπτωση και την νέκρωση, με την πρώτη να αποτελεί την πιο κοινή οδό κυτταρικού θανάτου. Δεδομένου ότι η απόπτωση είναι το αποτέλεσμα αυστηρά ρυθμιζόμενων, γενετικά ελεγχόμενων, αυτό-οργανωμένων διαδικασιών, συχνά αναφέρεται ως προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος (programmed cell death, PCD). Αντίθετα, η νέκρωση αποκαλείται μη προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, αφού συμβαίνει τυχαία με απρογραμμάτιστο τρόπο. Πρόσφατα, προτάθηκε ότι υπάρχει και ένας τρίτος τύπος κυτταρικού θανάτου, ο οποίος ονομάζεται απονέκρωση. Τα κύτταρα που πεθαίνουν με αυτό τον μηχανισμό εμφανίζουν σημάδια τόσο απόπτωσης όσο και νέκρωσης. Αυτό πιστεύεται ότι είναι απόρροια της ατελούς εκτέλεσης των βιοχημικών μονοπατιών που σχετίζονται με την απόπτωση (Brantley et al., n.d.).

Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον C. Vogt στα μέσα του 19^{ου} αιώνα, μέσω παρατηρήσεων στη μορφολογία των κυττάρων που πεθαίνουν κατά τη διάρκεια της μεταμόρφωσης, σε αμφίβια. Μέχρι το 1885 υπήρχαν πολυάριθμες δημοσιεύσεις που κατέγραφαν παρόμοιες μορφολογικές αλλαγές στους ιστούς των εντόμων που μεταμορφώνονταν. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν τη δεκαετία του 1960 από τον Αυστραλό παθολόγο John Kerr, σε ισχαιμική βλάβη του ήπατος, ανέφεραν την ύπαρξη δύο τύπων κυτταρικού θανάτου : αυτού που ήταν τότε γνωστός ως κλασική νέκρωση και μια άλλη μορφή, όπου τα διάσπαρτα κύτταρα μετατρέπονταν σε μικρές στρογγυλές μάζες κυτταροπλάσματος, που συχνά περιείχαν κηλίδες συμπυκνωμένης πυρηνικής χρωματίνης. Ο Kerr στη συνέχεια ονόμασε αυτόν τον νεοανακαλυφθέντα τύπο κυτταρικού θανάτου απόπτωση. Έκτοτε, έχει διεξαχθεί ένας τεράστιος όγκος ερευνών για τη διερεύνηση των κυτταρικών και μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στην απόπτωση (Jorgensen et al., n.d.).

Η απόπτωση βρίσκεται σε μια λεπτή και αυστηρά ελεγχόμενη ισορροπία με την μίτωση. Η έρευνα που έχει γίνει στον τομέα του προγραμματισμένου κυτταρικού

θανάτου τις τελευταίες δεκαετίες έχει αποφέρει μια πληθώρα πληροφοριών σχετικά με τα ακριβή, εξαιρετικά ελεγχόμενα κυτταρικά και μοριακά γεγονότα που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της απόπτωσης. Οι ακόλουθες ενότητες έχουν ως στόχο να αναδείξουν αυτές τις διαδικασίες και να μοιραστούν τις πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα (Mishra et al., 2018).

Ο όρος κυτταρικός θάνατος έχει τρεις έννοιες. Αναφέρεται στην περιορισμένη δυνατότητα διαίρεσης των φυσιολογικών κυττάρων σε καλλιέργεια, στην εξαφάνιση των κυττάρων κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής ζωής ενός ατόμου και στην ελεγχόμενη αυτοκτονία των κυττάρων. Η σχετιζόμενη με την ηλικία μείωση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος μπορεί να αντανakλά την πρώτη έννοια, την περιορισμένη διάρκεια ζωής των καλλιεργούμενων κυττάρων. Η δεύτερη δεν είναι επαρκώς καθορισμένη, αλλά πιθανώς προκύπτει από την αυτοκτονία των κυττάρων, που περιγράφεται αλλιώς ως προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ή απόπτωση και συχνά ελέγχεται από συγκεκριμένα γονίδια που προστατεύουν ή καταστρέφουν τα κύτταρα. Αυτός ο ελεγχόμενος κυτταρικός θάνατος είναι σημαντικός στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος καθώς και στη διαφοροποίηση και τον θάνατο των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Η αποτυχία του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου ή της απόπτωσης μπορεί να οδηγήσει σε καρκίνο και αυτοάνοσα νοσήματα, ενώ ο υπέρμετρος κυτταρικός θάνατος μπορεί να οδηγήσει σε ανοσολογική ανεπάρκεια, νευροεκφύλιση ή απώλεια κυττάρων σε περίπτωση εμφράγματος. Οι μελλοντικές θεραπείες είναι πιθανό να προσπαθήσουν να ρυθμίσουν τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο και την απόπτωση (Mishra et al., 2018).

Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος εμφανίζεται σε ένα ευρύ φάσμα αναπτυσσόμενων ιστών. Μεταξύ των κρίσιμων αναπτυξιακών ρόλων του είναι η διαμόρφωση των ιστών, η απομάκρυνση εμβρυϊκών δομών που είναι περιττές στον ενήλικα και η ελεγχόμενη απομάκρυνση των πλεοναζόντων, μη λειτουργικών ή λανθασμένων κυττάρων. Ο σχηματισμός των δακτύλων κατά την ανάπτυξη των άκρων καταδεικνύει τη σημασία του PCD στη σμίλευση των ιστών. Το άπω τμήμα του οφθαλμού του άκρου διαφοροποιείται σε δάκτυλα, ως αποτέλεσμα του κυτταρικού θανάτου που συντελείται στο μεσοδερμικό στρώμα. Σε αυτή την κατάσταση, ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος είναι τόσο γρήγορος και στοχευμένος, ώστε μια πυκνή περιοχή αποπτωτικών σωμάτων είναι ορατή μεταξύ των αναπτυσσόμενων δακτύλων. Ο σχηματισμός δικτυωτών δακτύλων ή ποδιών, που προέρχεται είτε από

γενετικές ανωμαλίες είτε από έκθεση σε παράγοντες που προκαλούν τερατογένεση, είναι το αποτέλεσμα του ατελούς κυτταρικού θανάτου στη μεσοδακτυλική περιοχή (Kajarabille & Latunde-Dada, 2019).

Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη του νευρικού συστήματος των σπονδυλωτών, επειδή τόσο ο αριθμός των νευρώνων όσο και των ολιγοδενδροκυττάρων που σχηματίζονται στα πρώιμα εμβρυϊκά στάδια υπερβαίνει κατά πολύ τον αριθμό που απαιτείται στον ώριμο οργανισμό. Το 50% ή και περισσότερο των αισθητικών νευρώνων και των κινητικών νευρώνων που σχηματίζονται υφίστανται προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Αυτή η μαζική ποσότητα κυτταρικού θανάτου αρχίζει καθώς οι άξονες συνδέονται με τους ιστούς-στόχους κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης και συνεχίζεται και μεταγεννητικά. Το μεγαλύτερο μέρος PCD που συμβαίνει κατά την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος φαίνεται να είναι αποπτωτικός κυτταρικός θάνατος (Wu et al., 2018).

Το τρέχον μηχανιστικό μοντέλο που εξηγεί αυτή τη μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου ονομάζεται νευροτροφική θεωρία. Σύμφωνα με αυτό, η επιβίωση των νευρώνων εξαρτάται από συγκεκριμένους νευροτροφικούς παράγοντες που εκκρίνονται από τα συναπτικά κύτταρα-στόχους. Οι νευρώνες που αποτυγχάνουν να φτάσουν στους κατάλληλους στόχους δεν λαμβάνουν τα κατάλληλα ερεθίσματα των αυξητικών παραγόντων και στη συνέχεια πεθαίνουν με απόπτωση. Άλλοι παράγοντες που σχετίζονται με την κατάλληλη αντιστοίχιση του νευρώνα με τον στόχο, όπως η ηλεκτρική δραστηριότητα, η προσαγωγός διέγερση και οι αλληλεπιδράσεις κυττάρου-κυττάρου, μπορούν επίσης να επηρεάσουν αυτό το μοντέλο. Έτσι, ο κυτταρικός θάνατος ταιριάζει τον αριθμό των νευρώνων με τον αριθμό των κυττάρων-στόχων και προφυλάσσει από ακατάλληλες συνδέσεις. Τα ολιγοδενδροκύτταρα αρχικά βρίσκονται σε περίσσεια, αλλά υφίστανται PCD έως ότου ο αριθμός τους να ταιριάζει με τον αριθμό των αξόνων τους οποίους μυελώνουν. Αν και πλέον είναι αποδεκτό ότι κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης πεθαίνει μεγάλος αριθμός νευρικών κυττάρων, η λογική αυτής της αναπτυξιακής διαδικασίας δεν έχει γίνει ακόμη κατανοητή. Μήπως η υπερπαραγωγή νευρώνων προσφέρει στους οργανισμούς μεγαλύτερη ποικιλία επιλογών για την νεύρωση των ιστών-στόχων; Ή μήπως ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος των νευρώνων διορθώνει την έλλειψη ρύθμισης στα πρώιμα στάδια της νευρογένεσης (Jorgensen et al., n.d.);

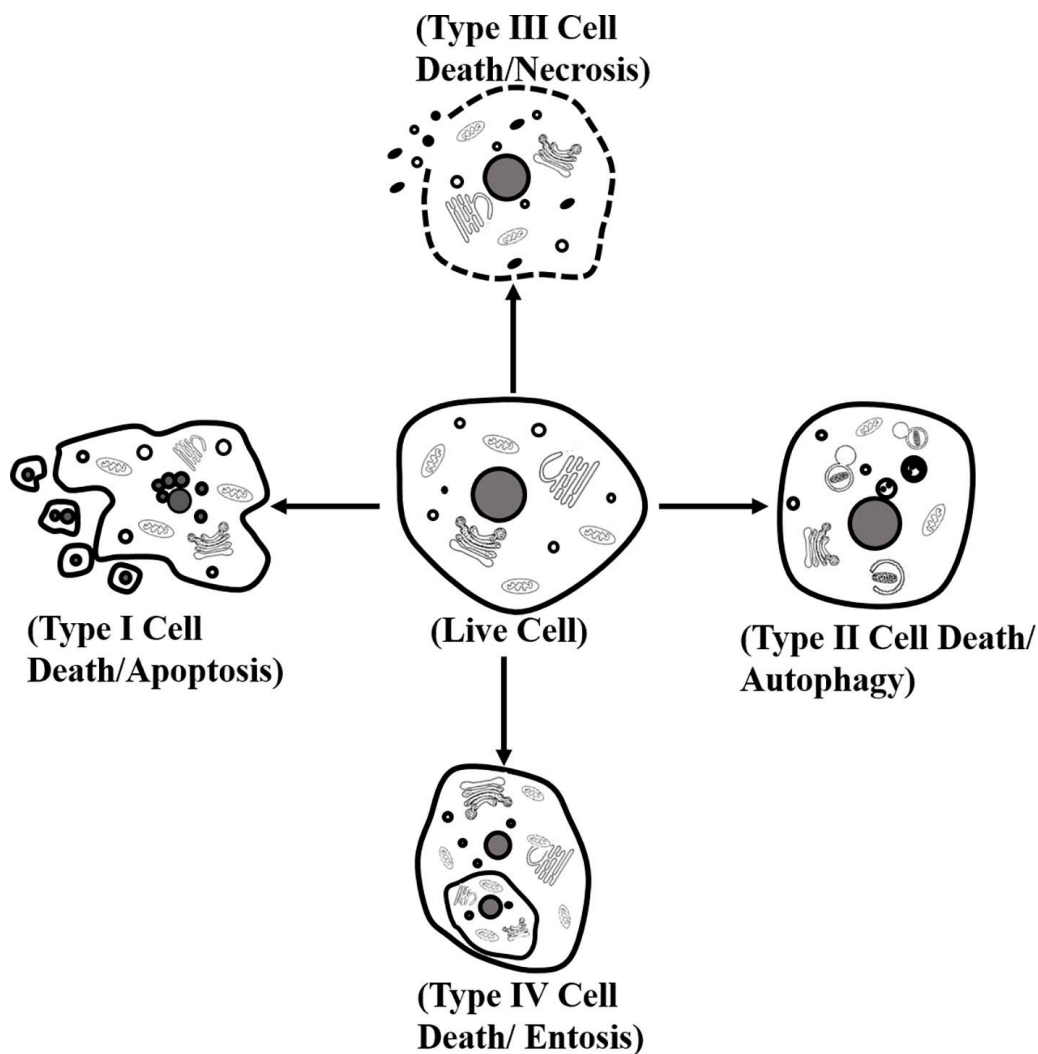
Ο κρίσιμος νευροτροφικός παράγοντας για τους αισθητικούς και συμπαθητικούς νευρώνες είναι ο αυξητικός παράγοντας NGF, αν και οι νευρώνες αυτοί ανταποκρίνονται και σε άλλες νευροτροφίνες. Ο NGF που δίνεται συμπληρωματικά εξωγενώς εμποδίζει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο των νευρώνων, ενώ η αφαίρεσή του *in vivo* οδηγεί σε αύξηση του κυτταρικού θανάτου. Τα καλλιεργούμενα νευρωνικά κύτταρα παρουσιάζουν παρόμοια απαίτηση για NGF. Οι κινητικοί νευρώνες δεν ανταποκρίνονται στον αυξητικό παράγοντα NGF, αλλά σε ένα μεγαλύτερο φάσμα παραγόντων επιβίωσης, όπως είναι ο αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών, FGF, ο αυξητικός παράγοντας που προέρχεται από αιμοπετάλια, PDGF, ο αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β, TGF-β, η ινσουλίνη και οι ινσουλινοειδείς αυξητικοί παράγοντες (Mishra et al., 2018).

Μία μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, που ονομάζεται φερρόπτωση και σχετίζεται με την ποσότητα σιδήρου στα κύτταρα, παρατηρείται κατά την ένωση των επιθηλιακών φύλλων για τον σχηματισμό σωληνοειδών δομών στο έμβρυο, παραδείγματος χάριν, κατά το κλείσιμο του νευρικού σωλήνα. Τα αναπτυσσόμενα έμβρυα νεοσσών που εκτίθενται σε πεπτιδικούς αναστολείς των αποπτωτικών κασπασών, εμφανίζουν μείωση της διαδικασίας του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου στον αναπτυσσόμενο νευρικό σωλήνα, ο οποίος δεν κλείνει. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η απόπτωση απαιτείται για τον σωστό σχηματισμό του νευρικού σωλήνα (Kajarabille & Latunde-Dada, 2019).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

ΤΟ ΖΗΤΗΜΑ ΤΟΥ ΘΑΝΑΤΟΥ ΚΑΙ Ο ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ

2.1) Τα είδη των θανάτων



Εικόνα 1: Ταξινόμηση του κυτταρικού θανάτου. Μορφολογικά, ο κυτταρικός θάνατος ταξινομείται σε τέσσερις διαφορετικές μορφές: τύπος I η απόπτωση, τύπος II η αυτοφαγία, τύπος III ή νέκρωση και τύπος IV η έντωση.

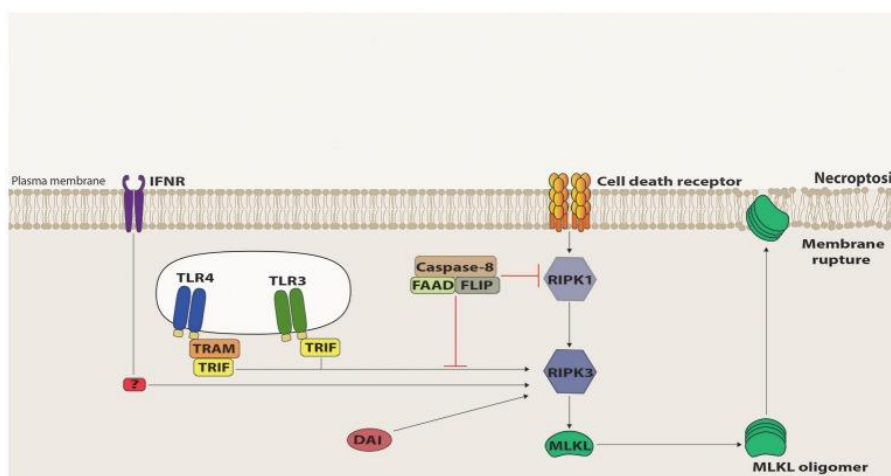
Ο νεκρωτικός κυτταρικός θάνατος περιλαμβάνει μία πληθώρα διαδικασιών κυτταρικού θανάτου. Η νέκρωση μπορεί να εμφανιστεί σε περίπτωση εκτεταμένης βλάβης, όπως υψηλή θερμοκρασία και μηχανική καταπόνηση, οδηγώντας σε καταστροφή της κυτταρικής ακεραιότητας. Στην περίπτωση αυτή η νέκρωση είναι

παθητική και δεν απαιτεί συγκεκριμένα σηματοδοτικά μονοπάτια. Ένας άλλος τύπος νέκρωσης, ονομάζεται δευτερογενής νέκρωση, εμφανίζεται στο τελικό στάδιο της απόπτωσης ή της αυτοφαγίας, όταν τα νεκρά κύτταρα δεν μπορούν να απομακρυνθούν με φαγοκυττάρωση. Η δευτερογενής νέκρωση θεωρείται ανεξάρτητη από τα αρχικά σηματοδοτικά γεγονότα, της απόπτωσης ή της αυτοφαγίας. Ωστόσο, η νέκρωση, μπορεί να είναι αποτέλεσμα ενός σηματοδοτικού καταρράκτη. Πρώιμη μελέτη έδειξε ότι ο διαβήτης αύξησε τη νέκρωση κατά τέσσερις φορές στα καρδιομυοκύτταρα (Carneiro et al., 2018).

Η νεκρόπτωση είναι η καλύτερα χαρακτηρισμένη μορφή προγραμματισμένης νέκρωσης, η οποία παρουσιάζει χαρακτηριστικά τόσο της απόπτωσης όσο και της νέκρωσης. Η νεκρόπτωση αντικατοπτρίζει την ύπαρξη ενός μοριακού αποπτωτικού μονοπατιού με τον φαινότυπο νέκρωσης. Έρευνες έδειξαν ότι η σύνδεση μεταξύ του υποδοχέα παράγοντα νέκρωσης όγκων 1 (TNFR1) και της CD95 ήταν ικανή να προκαλέσει νέκρωση, ειδικά όταν η λειτουργία της κασπάσης είχε ανασταλεί. Το πρώτο μόριο που αναγνωρίστηκε στη νεκροπτωτική οδό ήταν το RIPK1, ως αναστολέας της δραστηριότητας της κινάσης. Η νεκροστατίνη 1 (Nec-1) αποδείχτηκε ότι καταστέλλει τον κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από την αναστολή της κασπάσης κατά την διέγερση του συμπλόκου TNFR1/Fas. Τα μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με την βλάβη (DAMPs), οι υποδοχείς που δεσμεύουν νουκλεοτίδια και οι υποδοχείς που μοιάζουν με τον τομέα ολιγομερισμού, το ριποπώσωμα και τα σύμπλοκα της πρωτεϊνικής κινάσης R (PKR) πυροδοτούν επίσης τη νεκρόπτωση (Carneiro et al., 2018).

Η πιο διεξοδικά μελετημένη οδός ενεργοποίησης της νεκρόπτωσης είναι αυτή στην οποία εμπλέκεται ο παράγοντας νέκρωσης όγκων 1 (TNFR1). Αφού ο TNF- α προσδεθεί στον TNFR1, υπάρχουν τρεις πιθανές αποκλίνουσες λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής επιβίωσης, της απόπτωσης ή της νεκρόπτωσης, μέσω διαφορετικών σηματοδοτικών συμπλεγμάτων. Το σύμπλεγμα I είναι προ-βιωτικό και το σύμπλεγμα IIa είναι προ-αποπτωτικό. Η δημιουργία του συμπλέγματος IIb έχει ως αποτέλεσμα τη νεκρόπτωση. Η πρωτεΐνη 3 που αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα (RIPK3) θεωρείται κρίσιμος ρυθμιστής της νεκρόπτωσης. Στην ασθένεια του διαβήτη, η RIPK3 ρυθμίζει τη νεκρόπτωση με τρόπο εξαρτώμενο από την RIP1. Μόλις η RIPK3 στρατολογηθεί από την RIPK1, ενεργοποιείται με αυτοφωσφορύλωση για να προωθήσει τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης MLKL. Εν συνεχεία, η MLKL

ολιγομερίζεται και μετατοπίζεται στην κυτταρική μεμβράνη, αλληλεπιδρά με τα λιπίδια φωσφατιδυνοσιτόλης και τη καρδιολιπίνη, με αποτέλεσμα η μεμβράνη να καθίσταται διαπερατή. Η εξαρτώμενη από την καλμοδουλίνη πρωτεϊνική κινάση II (CAMKII), είναι ένα πρόσφατα ανακαλυφθέν υπόστρωμα της RIP3 για την επαγωγή της νεκρόπτωσης. Η CAMKII βρίσκεται σε αφθονία στο μυοκάρδιο και αδρανοποιείται υπό φυσιολογικές συνθήκες. Η φωσφορυλίωσή της CAMKII από ιόντα ασβαστίου (Ca^{2+}) ή RIP1 διευκολύνει τη νεκρόπτωση. Εν τω μεταξύ, η HA (hemmagglutinin) αυξάνει επίσης τις πρωτεΐνες ROS για την ενεργοποίηση της CAMKII μέσω οξειδωσης. Συνολικά, οι παραπάνω παθολογικές αλλαγές πυροδοτούν το άνοιγμα της διαπερατότητας του μιτοχονδριακού πόρου μετάβασης (mPTP), ο οποίος εμπλέκεται στην οδό της νεκρόπτωσης. Ορισμένες έρευνες διαπίστωσαν ότι η κατάπτωση της κυκλοφιλίνης D (CypD), μιας πρωτεΐνης που η ύπαρξή της αυξάνει την πιθανότητα του ανοίγματος του mPTP, προστατεύει από την νέκρωση των μυοκαρδιακών κυττάρων, που προκαλείται από την RIP3. Η ρύθμιση της RIP3 αύξησε την έκφραση της φωσφογλυκερικής μούτάσης 5 (PGAM5), ενίσχυσε τη φωσφορυλίωση της CypD και τελικά οδήγησε σε άνοιγμα του mPTP. Το υπέρμετρο άνοιγμα του mPTP ενίσχυσε επίσης το σήμα θανάτου και τελικά οδήγησε σε νεκρόπτωση στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Carneiro et al., 2018).



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/instance/6232773/bin/fimmu-09-02379-g0002.jpg>

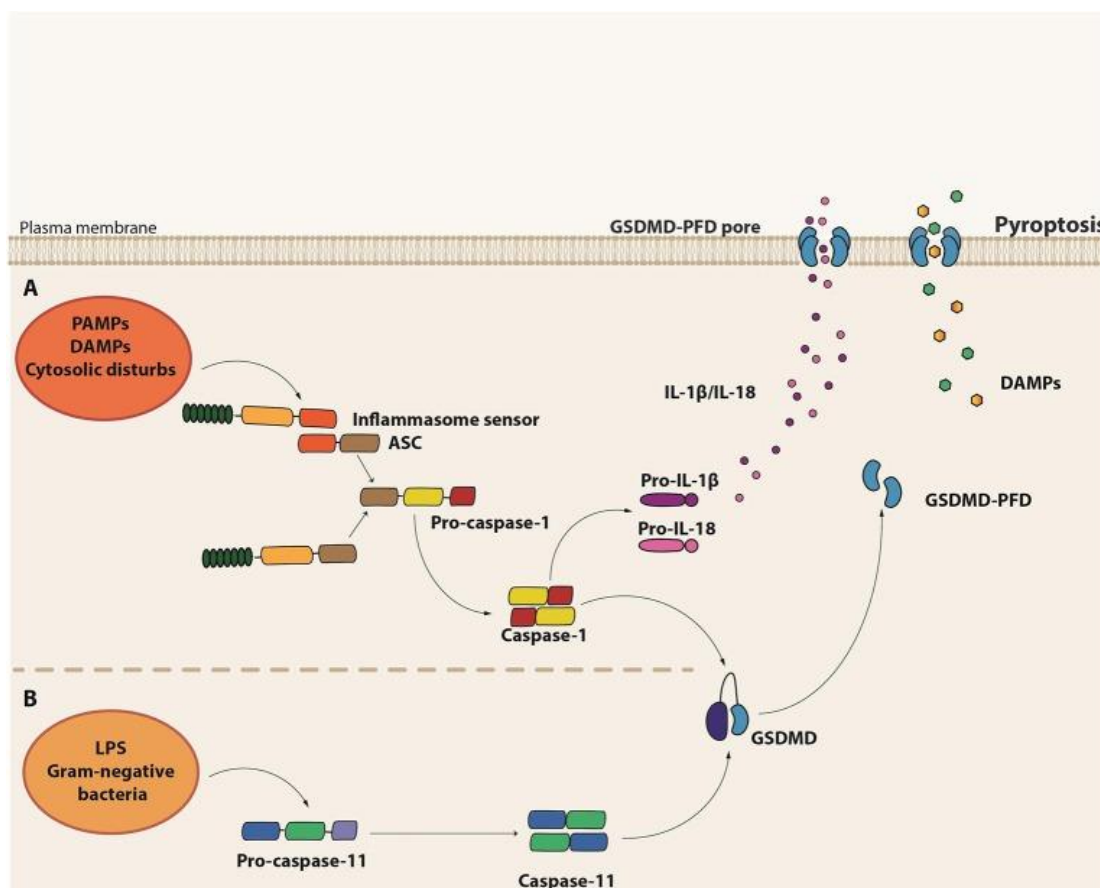
Εικόνα 2: Σηματοδοτικό μονοπάτι της νεκρόπτωσης. Ο υποδοχέας θανάτου που επάγει τη νεκρόπρωση, απαιτεί τη δράση RIPK1 κινάσης για να στρατολογήσει την RIPK3 κι εκείνη με τη σειρά της να στρατολογήσει και να

ενεργοποιήσει την MLKL, μέσω φωσφορυλίωσης του ψευδοκινασικού της τομέα. Μόλις φωσφορυλιωθεί η MLKL ολιγομερίζεται και μεταναστεύει στην πλασματική μεμβράνη, όπου αλληλεπιδρά με φωσφατιδυνιλοσιτολικές φωσφατάσες προκαλώντας αποσταθεροποίηση και ρήξη της μεμβράνης. Το σηματοδοτικό μονοπάτι της νεκρόπτωσης που διαμεσολαβείται από TRIF, IFN γ και DAI ενεργοποιεί άμεσα την RIPK3 και σε αυτή την περίπτωση η RIPK1 δρα σαν αρνητικός ρυθμιστής, κυρίως με το να στρατολογεί στη σηματοδοτική πλατφόρμα το κατασταλτικό σύμπλοκο που περιέχει κασπάση-8, FADD και c-FLIP.

Η πυρόπτωση αποτελεί μία άλλη κατηγορία προγραμματισμένης νέκρωσης. Διαφέρει από την νεκρόπτωση κυρίως στο γεγονός ότι σε αυτή απαιτούνται η φλεγμονώδης κασπάση-1 και/ή η κασπάση-11. Η πυρόπτωση είναι υπεύθυνη για την κυτταρική λύση και την εξωκυττάρια απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως είναι η ιντερλευκίνη-1 β (IL-1 β) και η ιντερλευκίνη-18 (IL-18). Υπάρχουν δύο διαφορετικές οδοί διεκπεραίωσης της πυρόπτωσης, η κανονική οδός και η μη κανονική. Στο κανονικό μονοπάτι, τα κυτταροπλασματικά πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα, τα οποία καλούνται φλεγμονοσώματα, αποτελούνται από την οικογένεια των υποδοχέων NLR, που μοιάζουν με τους υποδοχείς δέσμησης νουκλεοτιδίων NOD, συμπεριλαμβανομένων των NLRP3, NLRP1, NLRC4, NLRP9 και NLRP6, τις πρωτεϊνικές οικογένειες της πυρίνης, και του τομέα HIN (PYHIN) (απουσιάζει στο μελάνωμα 2, AIM2). Τα διακριτά φλεγμονοσώματα αναγνωρίζονται από μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με παθογόνα PAMPs ή DAMPs για να ενεργοποιήσουν την κασπάση-1, οδηγώντας σε πυρόπτωση. Στη μη κανονική οδό, ο βακτηριακός πολυσακχαρίτης LPS παραδίδεται στο κυτταρόλυμα για την ενεργοποίηση της κασπάσης-11. Η ενεργοποιημένη κασπάση-11 επάγει άμεσα την πυρόπτωση. Η διασπασμένη κασπάση-11 ενεργοποιεί την Gasdermin-D (GSDMD) για να σχηματίσει έναν μεμβρανικό πόρο. Παράλληλα, το φλεγμονόσωμα NLRP3 ενεργοποιείται από το N-τελικό τμήμα της GSDMD, GSDMD-N, προκειμένου να προκαλέσει πυροπύκνωση μέσω της κανονικής οδού (Carneiro et al., 2018).

Η έντοση φαίνεται να διαφέρει θεμελιωδώς από τις περισσότερες τυπικές μορφές κυτταρικού θανάτου, λόγω της απαίτησης για καταβύθιση των κυττάρων προκειμένου να πραγματοποιηθεί η πυρόπτωση. Η έντοση διαμεσολαβείται από την κυτταρική απορρόφηση μέσω της E-καντερίνης και της α -καντερίνης, της οικογένειας

GTPασών Rho και της κινάσης που συνδέεται με την Rho. Η ε αναγνωρίζεται ως βασικός μηχανισμός εμφύτευσης εμβρύων, ο οποίος διαδραματίζει προ- και αντικαρκινικό ρόλο στον καρκίνο. Ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν έχουν βρεθεί δεδομένα σχετικά με τον ρόλο της στις καρδιαγγειακές παθήσεις και οι πιθανοί μηχανισμοί ήταν ελλιπώς καθορισμένοι (Tuo et al., 2022).



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6232773/pdf/fimmu-09-02379.pdf>

Εικόνα 3: Μοριακή βάση της πυρόπτωσης. (Α) Συναρμολόγηση κανονικού φλεγμονοσώματος αναγνωρίζοντας PAMPs, DAMPS και άλλες κυτοσολικές διαταραχές, οδηγεί στην άμεση στρατολόγηση και ενεργοποίηση της κασπάσης-11 ή μέσω της στρατολόγησης του υποδοχέα της πρωτεΐνης ASC. Η κασπάση-1 προκαλεί την ωρίμανση των pro-IL-1β και pro-IL-18 στις ενεργές μορφές τους καθώς και τη διάσπαση της Gasdermin D (GSDMD). Ο τομέας σχηματισμού πόρου της GSDMD, PFD, αλληλεπιδρά με την πλασματική μεμβράνη προκειμένου να σχηματιστεί ο πόρος της GSDMD, γεγονός που θα οδηγήσει την απελευθέρωση του εσωκυττάριου περιεχομένου, συμπεριλαμβανομένων των IL-1β και IL-18. (Β) Η μη κανονική οδός ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος αρχίζει με την ανίχνευση της κυτοσολικής LPS σε gram αρνητικά βακτήρια από την ίδια την ίδια

την προκασπάση-11. Η ενεργοποιημένη κασπάση-11 (κασπάση-4 ή κασπάση-5 στον άνθρωπο) με τη σειρά της προκαλεί διάσπαση της GSDMD και επακόλουθη πυρόπτωση.

Η φερρόπτωση είναι μια εξαρτώμενη από τον σίδηρο και την λιποτοξικότητα μορφή ρυθμιζόμενου κυτταρικού θανάτου (RCD). Παρατηρείται σε κύτταρα που χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη μικρών μιτοχονδρίων που έχουν συμπιεσμένες μιτοχονδριακές πυκνότητες και οι πτυχώσεις έχουν εξαφανιστεί. Το GSH εξαρτώμενο ένζυμο γλουταθειόνη περοξυδάσης 4 (GPX4) είναι ο κύριος ενδογενής ανασταλτικός παράγοντας της φερρόπτωσης, εξαιτίας της ικανότητάς του να πειορίζει την οξείδωση των λιπιδίων ανάγοντάς τα σε αλκοόλες. Η αναστολή της δράσης του GPX4 μπορεί να οδηγήσει στη συσσώρευση υπεροξειδίων των λιπιδίων, που είναι δείκτης φερρόπτωσης (Shojaie et al., 2020).

Η ανοδική ρύθμιση του ACSL4 είναι ο δείκτης της σιδηροπύκνωσης. Η μείωση της αντιοξειδωτικής γλουταθειόνης ή η αναστολή των υπεροξειδασών της γλουταθειόνης ενίσχυσε αναπόφευκτα τον σχηματισμό του ROS, ενός κυτταροδιαπερατού ενεργοποιητή της φερρόπτωσης. Έχει αναφερθεί ότι η φερρόπτωση ρυθμίζεται κατά τη διάρκεια της φαρμακευτικής θεραπείας. Το εάν συμμετέχει ή όχι στην παθολογία της διατακτικής μυοκαρδιοπάθειας (DCM) είναι ασαφές (Carneiro et al., 2018).

Ο παρθάνατος (Parthanatos) είναι μία μορφή ελεγχόμενου κυτταρικού θανάτου, απόρροια της υπερδραστηριότητας μίας συγκεκριμένης μηχανής απόκρισης στην καταστροφή του DNA, που ονομάζεται πολύ-ADP ριβόζη πολυμεράση 1 (PARP1). Ο παρθάνατος λαμβάνει χώρα όχι μόνο σαν συνέπεια της ακετυλίωσης του DNA, αλλά και σε περίπτωση οξειδωτικού στρες, υποξίας, υπογλυκαιμίας και όταν υπάρχει ένδειξη φλεγμονής. Κατά τη διάρκειά του δεν παρατηρείται ούτε σχηματισμός αποπτωτικών σωμάτων ούτε κατακερματισμός του DNA. Επίσης, δεν προκαλείται διόγκωση των κυττάρων ή λυσοσωμική αποικοδόμηση. Η ενεργειακή εξάντληση και η απελευθέρωση του παράγοντα που προκαλεί απόπτωση (AIF) από τα μιτοχόνδρια με τη μεσολάβηση της PARP ή της καλπαΐνης, είναι πιθανώς οι κύριοι μηχανισμοί του παρθανάτου. Έχει αναφερθεί ότι ο παρθάνατος εμπλέκεται σε καρδιαγγειακές παθήσεις, νεφρικές παθήσεις, σχετίζεται με τον διαβήτη και με περιπτώσεις

νευροεκφυλιστικών νόσων. Πιο συγκεκριμένα, σε ότι αφορά καρδιαγγειακές παθήσεις, έχει βρεθεί ότι ο αναστολέας της PARP L-2286 απέτρεψε αποτρέπει την καρδιακή αναδιαμόρφωση, βελτιώνει τη συστολική λειτουργία και καθυστερεί την ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας. Έτσι, η αναστολή της PARP, δυνητικά, μπορεί να μετριάσει την διατακτική μυοκαρδιοπάθεια (Galluzzi et al., 2018).

Ένα άλλο είδος κυτταρικού θανάτου που έχει παρατηρηθεί, ονομάζεται νετωτικός κυτταρικός θάνατος (NETotic cell death) και πρόκειται για έναν αμφιλεγόμενο μηχανισμό ελεγχόμενου κυτταρικού θανάτου, οποίος απαντάται κυρίως στα ουδετερόφιλα κύτταρα. Σχετίζεται με την εξώθηση ενός πλέγματος ινών που περιέχει χρωματίνη και ιστόνες και το οποίο είναι συνδεδεμένο με κοκκιώδεις και κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες, γνωστές ως ουδετερόφιλες εξωκυττάριας παγίδες (NETs). Η διαδικασία ονομάζεται νέτωση (NETosis) και ρυθμίζεται από την παραγωγή ROS με τη μεσολάβηση NADPH και την κιτρουλινοποίηση των ιστονών. Ο σχηματισμός και η απελευθέρωση των NET στηρίζεται στην παραγωγή των πρωτεϊνών ROS, την αυτοφαγία, την απελευθέρωση κοκκοειδών ενζύμων και την μετατόπιση από το κυταρρόλυμα στον πυρήνα. Η κιτρουλινοποίηση των ιστονών οδηγεί τελικά σε εξάντληση της χρωματίνης, καταστροφή της πυρηνικής μεμβράνης και απελευθέρωση ινών χρωματίνης (Galluzzi et al., 2018).

Ο εξαρτώμενος από τα λυσοσώματα κυτταρικός θάνατος (Lysosome-dependent cell death, LDGD), γνωστός ως λυσοσωμικός κυτταρικός θάνατος, είναι μία μορφή ελεγχόμενου κυτταρικού θανάτου που πυροδοτείται από διαταραχές της ενδοκυττάριας ομοιόστασης και οριοθετείται από τη διαπερατότητα των λυσοσωμικών μεμβρανών (LMP). Αυτό το είδος κυτταρικού θανάτου έχει συσχετιστεί με διάφορες καταστάσεις παθοφυσιολογίας, όπως είναι η φλεγμονή, η αναδιαμόρφωση ιστού (παραδείγματος χάριν, εισβολή του μαστικού αδένος μετά την γαλουχία), η γήρανση, ο νευροεκφυλισμός, καρδιαγγειακές δυσλειτουργίες και παθογόνες ενδοκυττάριας αποκρίσεις (Galluzzi et al., 2018).

Σε βιοχημικό επίπεδο, ο εξαρτώμενος από τα λυσοσώματα κυτταρικός θάνατος διεκπεραιώνεται καθιστώντας διαπερατή την κυτταρική μεμβράνη, γεγονός που οδηγεί στην απελευθέρωση πρωτεολυτικών ενζύμων στο κυτταρόπλασμα. Οι μοριακοί μηχανισμοί που δρουν ανοδικά ώστε να καταστεί διαπερατή η μεμβράνη δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Σε ορισμένες, όμως περιπτώσεις, φαίνεται να υπάρχει

αρνητική ρύθμιση του MOMP, ως αποτέλεσμα του αποπτωτικού σήματος (Galluzzi et al., 2018).

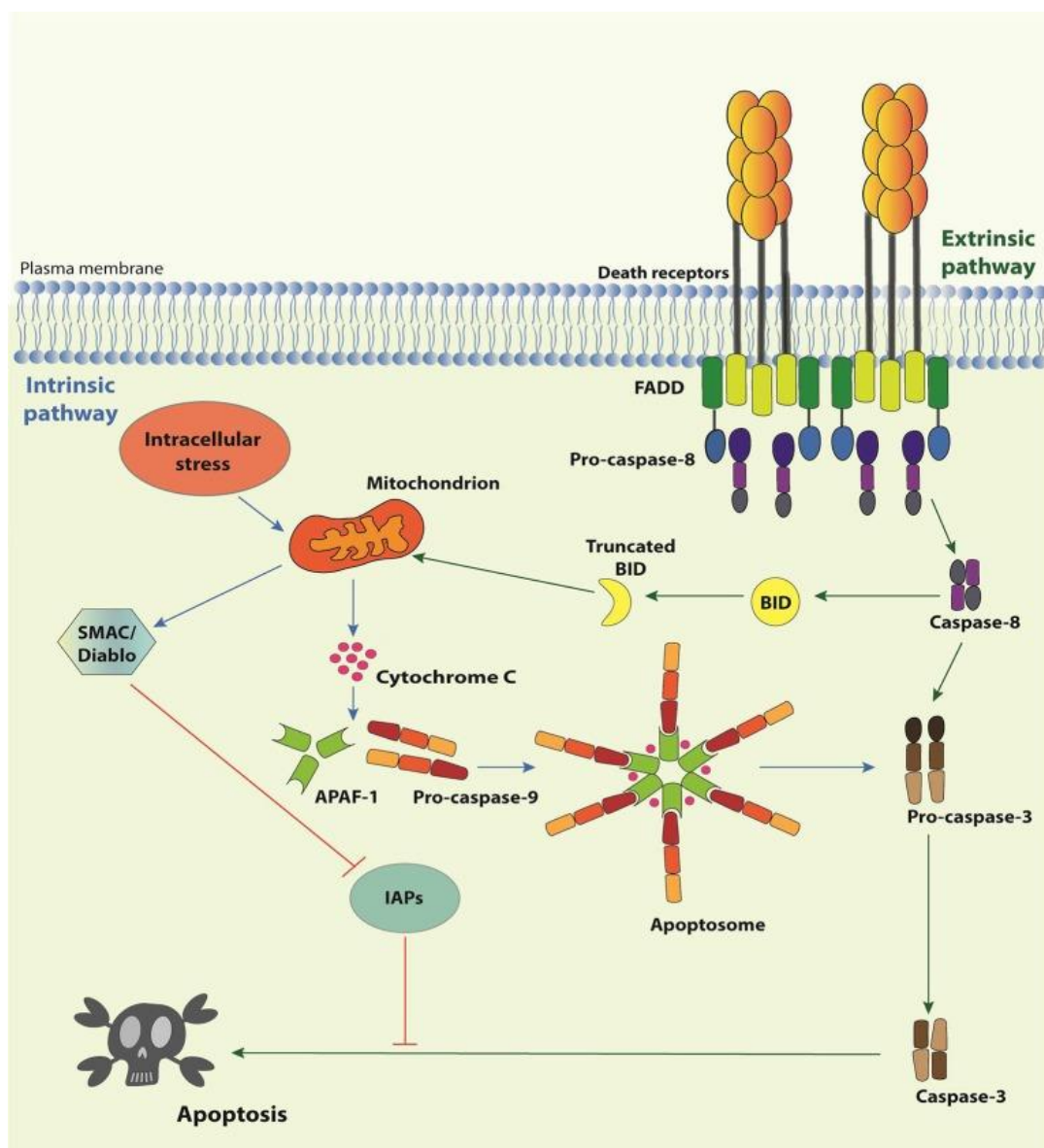
Πολλαπλές συνιστώσες των καταρρακτών μεταγωγής σήματος που ρυθμίζουν ή επισπεύδουν τον κυτταρικό θάνατο, εμπλέκονται στην τελική διαφοροποίηση μιας ποικιλίας κυτταρικών τύπων συμπεριλαμβανομένων των νευρώνων, των κοκκιοκυττάρων, των μεγακαρυοκυττάρων, των ερυθροβλαστών, των οστεοκλαστών, των σπαρματοζωαρίων, των σκελετικών μυοκυττάρων, των κυττάρων του φακού και του κερατινοποιημένου επιθηλίου. Η τελευταία διαδικασία είναι γνωστή ως κερατινοποίηση και βασίζεται στην CASP14 και σε πολλές ισομορφές της τρανσγλουταμινάσης. Θεωρείται εδώ και καιρό ως μία μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Όμως, η NCCD πρωτεΐνη μία εννοιολογική διάκριση μεταξύ προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου και τελικής διαφοροποίησης. Πράγματι, τα νεκρά κύτταρα απορρίπτονται και συνεπώς χάνουν τη λειτουργικότητά τους κατά τη διάρκεια του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Αντίθετα, όταν η τελική διαφοροποίηση περιλαμβάνει κυτταρικό θάνατο, όπως στην περίπτωση της αραχνοποίησης, τα νεκρά κύτταρα γίνονται αναπόσπαστο μέρος ενός ιστού και επομένως, μεσολαβούν σε μία συγκεκριμένη φυσιολογική λειτουργία. Σε παρόμοια κατεύθυνση, το NCCD αποθαρρύνει τη χρήση του όρου «ερύπωση», ο οποίος επινοήθηκε για να δηλώσει το θάνατο των ερυθροκυττάρων που εκτίθενται σε συνθήκες στρες. Ανεξάρτητα από την αδιαμφισβήτητη σημασία αυτής της διαδικασίας για την ανθρώπινη παθοφυσιολογία, είναι πράγματι εξαιρετικά περίπλοκο, από εννοιολογική άποψη, να οριστεί ο θάνατος οντοτήτων που, σε φυσιολογικές συνθήκες, βρίσκονται σε μια αμφισβητήσιμη κατάσταση μεταξύ ζωής και θανάτου. Τέτοιου είδους οντότητες είναι για παράδειγμα τα ερυθροκύτταρα και οι ιοί (Galluzzi et al., 2018).

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν γίνει τεράστιες προσπάθειες για την ανάπτυξη κυτταροπροστατευτικών στρατηγικών που αποσκοπούν στη διακοπή της σηματοδότησης του ελεγχόμενου κυτταρικού θανάτου μετά την έναρξη της διαδικασίας. Πρόκειται για ένα κλινικό σενάριο που αφορά τις περισσότερες ισχαιμικές διαταραχές. Τα αποτελέσματα της προσπάθειας είναι απογοητευτικά, αφού, παρά τις κλινικές δοκιμές, κανένα φάρμακο, που βασίζεται σε αυτή την ιδέα, δεν έχει εγκριθεί ποτέ για χρήση στον άνθρωπο (Shojaie et al., 2020).

Αντίθετα, ο αναστολέας της BCL2 είναι σήμερα διαθέσιμος για τη θεραπεία ασθενών που πάσχουν από χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ) και δεν έχουν αποκομίσει κανένα κλινικό όφελος από τις συμβατικές θεραπείες. Πολλά άλλα μόρια με παρόμοιο μηχανισμό δράσης βρίσκονται επί του παρόντος σε κλινική ανάπτυξη (Carneiro et al., 2018).

Εκτός από πιθανά ζητήματα που σχετίζονται με την φαρμακοκινητική και την φαρμακοδυναμική των ενώσεων που έχουν δοκιμαστεί μέχρι στιγμής, η ασυμφωνία αυτή πιθανώς αντανακλά την υψηλή διασυνδεσιμότητα των σηματοδοτικών μονάδων που εμπλέκονται στον έλεγχο του ρυθμιζόμενου κυτταρικού θανάτου στα θηλαστικά. Έτσι, ενώ η κλίση της ισορροπίας προς τον ελεγχόμενο κυτταρικό θάνατο φαίνεται σχετικά εύκολη υπόθεση, η παρεμπόδισή της μπορεί να απαιτεί την ταυτόχρονη αναστολή πολλών μονάδων μεταγωγής σήματος, και, ως εκ τούτου, μπορεί να είναι δύσκολα εφικτή. Επιπλέον, η επιστημονική κοινότητα έχει επικεντρωθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα σε συγκεκριμένα ένζυμα που θεωρείται βασικό αιτιώδη ρόλο στην εκτέλεση του ελεγχόμενου κυτταρικού θανάτου, αλλά στην πλειονότητα των σεναρίων φαίνεται ότι απλώς τον επιταχύνουν, παραδείγματος χάριν, οι κασπάσες. Ο κυτταρικός θάνατος σε όλες τις μορφές του συνδέεται τελικά με μία βιοενεργειακή και οξειδοαναγωγική κρίση, που μπορεί να αποτελεί την πραγματική του αιτία. Σε αυτό το σενάριο, η κυτταροπροστασία μπορεί να επιτευχθεί μόνο με παρεμβάσεις που εξουδετερώνουν αυτά τα αίτια. Είναι ενδιαφέρον ότι μια από τις ταχύτερες συνέπειες της δυνητικά θανατηφόρας εξάντλησης του ATP στο *D. Discoideum* είναι μια απότομη πυρηνοειδής αποδιοργάνωση σε συνδυασμό με ένα μη αναστρέψιμο μπλοκάρισμα της σύνθεσης του ριβοσωμικού RNA και του DNA. Μια παρόμοια διαδικασία έχει επίσης παρατηρηθεί σε κύτταρα θηλαστικών και φυτών που υποκύπτουν σε πολλαπλές μορφές ελεγχόμενου κυτταρικού θανάτου (Carneiro et al., 2018).

2.2) Η απόπτωση



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6232773/pdf/fimmu-09-02379.pdf>

Εικόνα 4: Αποπτωτικά μονοπάτια. Η ενδογενής οδός της απόπτωσης ενεργοποιείται όταν ενδοκυτταρικές πιέσεις, όπως βλάβη του DNA ή του κυτταροσκελετού ή έλλειψη αυξητικών παραγόντων/παραγόντων επιβίωσης, γίνονται αντιληπτές από τα BH3 μέλη της οικογένειας Bcl-2. Αυτά τα μόρια ενεργοποιούνται και μεταναστεύουν στα μιτοχόνδρια, όπου διευκολύνουν ή επάγουν ενεργά την απελευθέρωση αποπτογόνων παραγόντων, όπως είναι το κυτόχρωμα c και το SMAC/Diablo, προς το κυττόςολιο. Το κυτόχρωμα c συνεργάζεται με APAF-1 και προκασπάση-9 για να σχηματίσει το αποπτώσωμα,

καταλήγοντας στην ενεργοποίηση της κασπάσης-9, που ενεργοποιεί τις κασπάσες-τελεστές 3, 6 και 7, που είναι υπεύθυνες για τις βιοχημικές και μορφολογικές αλλαγές που σχετίζονται με την απόπτωση. Το SMAC/Diablo συμμετέχει προλαμβάνοντας την αναστολή των κασπασών από IAPs. Η εξωγενής οδός της απόπτωσης ξεκινά με τη δέσμευση του υποδοχέα θανάτου από τους συγγενείς συνδέσμους υποδοχέων θανάτου, που προκαλούν το σχηματισμό του συμπλέγματος σηματοδότησης θανάτου (DISC). Το DISC σχηματίζεται από το ενδοκυτταρικό τμήμα των υποδοχέων θανάτου, τις πρωτεΐνες αντάπτορες TRADD και/ή FADD και από την προκασπάση-8 (ή προκασπάση-10). Η ενεργοποιημένη κασπάση-8 μπορεί απευθείας να ενεργοποιήσει τις κασπάσες-τελεστές την BH3 πρωτεΐνη BID. Η περικομμένη BID μεταναστεύει στα μιτοχόνδρια και ενεργοποιεί το εξωγενές μονοπάτι της απόπτωσης.

Ο όρος απόπτωση χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά σε μία κλασική, πλέον, εργασία των Kerr, Wyllie και Curie το 1972 για να περιγράψει μια μορφολογικά ξεχωριστή μορφή κυτταρικού θανάτου, αν και ορισμένα στοιχεία είχαν περιγραφεί και νωρίτερα. Η κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στη διαδικασία της απόπτωσης στα κύτταρα των θηλαστικών προήλθε από τη διερεύνηση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου που συμβαίνει κατά την ανάπτυξη του νηματώδους *Caenorhabditis elegans*. Σε αυτό τον οργανισμό δημιουργούνται 1090 σωματικά κύτταρα κατά τον σχηματισμό του ενήλικου σκουληκιού, εκ των οποίων τα 131 υφίστανται απόπτωση ή προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Αυτά τα 131 κύτταρα πεθαίνουν σε συγκεκριμένα σημεία κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, η οποία είναι ουσιαστικά αμετάβλητη μεταξύ των σκουληκιών, αποδεικνύοντας την αξιοσημείωτη ακρίβεια και τον έλεγχο σε αυτό το σύστημα. Η απόπτωση έχει έκτοτε αναγνωριστεί και γίνει αποδεκτή ως ένας ξεχωριστός και σημαντικός τρόπος προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (Carneiro et al., 2018).

Η απόπτωση συμβαίνει φυσιολογικά κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και της γήρανσης και ως ομοιοστατικός μηχανισμός για τη διατήρηση των κυτταρικών πληθυσμών στους ιστούς. Εμφανίζεται, επίσης, ως αμυντικός μηχανισμός στις ανοσολογικές αντιδράσεις ή όταν τα κύτταρα καταστρέφονται από ασθένειες ή από επιβλαβείς παράγοντες. Αν και υπάρχει μεγάλη ποικιλία ερεθισμάτων και συνθηκών, τόσο φυσιολογικών όσο και παθολογικών, δεν είναι απαραίτητο να πεθάνουν όλα τα κύτταρα ως απάντηση στο ίδιο ερέθισμα (Shojaie et al., 2020).

Η ακτινοβολία ή τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη χημειοθεραπεία, στα πλαίσια θεραπείας του καρκίνου, έχουν ως αποτέλεσμα την πρόκληση βλαβών στο DNA ορισμένων κυττάρων, οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε αποπτωτικό θάνατο, μέσω μιας οδού που εξαρτάται από την πρωτεΐνη p53. Ορισμένες ορμόνες, όπως τα κορτικοστεροειδή μπορούν να οδηγήσουν ορισμένα κύτταρα σε απόπτωση (για παράδειγμα κύτταρα του θύμου αδένος), αν και κάποια κύτταρα ούτε επηρεάζονται ούτε διεγείρονται (Tsvetkov et al., 2022).

Η φωτεινή και η ηλεκτρονική μικροσκοπία έχουν εντοπίσει τις διάφορες μορφολογικές αλλαγές που συντελούνται κατά την απόπτωση. Κατά τη διάρκεια της πρώιμης διαδικασίας της απόπτωσης, η συρρίκνωση των κυττάρων και η πυκνότητα είναι ορατές με το φωτεινό μικροσκόπιο. Με την συρρίκνωση τα κύτταρα γίνονται μικρότερα σε μέγεθος, το κυτταρόπλασμα είναι πυκνό και τα οργανίδια είναι πιο σφιχτά συσκευασμένα. Η πυκνωση είναι αποτέλεσμα της συμπίκνωσης της χρωματίνης και αυτό είναι το πιο χαρακτηριστικό γνώρισμα της απόπτωσης. Κατά την ιστολογική εξέταση με χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης έγινε γνωστό ότι η απόπτωση αφορά μεμονωμένα κύτταρα ή μικρές ομάδες κυττάρων. Το αποπτωτικό κύτταρο εμφανίζεται ως στρογγυλή ή ωοειδής μάζα με σκούρο ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα και πυκνά μωβ θραύσματα πυρηνικής χρωματίνης. Η ηλεκτρονική μικροσκοπία μπορεί να καθορίσει καλύτερα τις υποκυτταρικές αλλαγές. Πριν κατά τη φάση της συμπίκνωσης της χρωματίνης, το πυκνό πυρηνικό υλικό συσσωρεύεται με χαρακτηριστικό τρόπο περιφερειακά κάτω από την πυρηνική μεμβράνη, αν και μπορεί, επίσης, να υπάρχουν ομοιόμορφα πυκνοί πυρήνες (Galluzzi et al., 2018).

Εν συνεχεία, εμφανίζεται εκτεταμένη αφαίμαξη της πλασματικής μεμβράνης, ακολουθούμενη από καρυόρροια και διαχωρισμό των κυτταρικών τμημάτων σε αποπτωτικά σώματα κατά τη διάρκεια μιας διαδικασίας που ονομάζεται εκβλάστηση. Τα αποπτωτικά σώματα αποτελούνται από κυτταρόπλασμα με πυκνά συσκευασμένα οργανίδια, με ή χωρίς πυρηνικό θραύσμα. Η ακεραιότητα των οργανιδίων εξακολουθεί να διατηρείται και όλα αυτά περικλείονται μέσα σε μια άθικτη πλασματική μεμβράνη. Τα σώματα αυτά στη συνέχεια φαγοκυτταρώνονται από τα μακροφάγα κύτταρα και αποικοδομούνται εντός των φαγολυσωσώματων. Τα μακροφάγα που «καταπίνουν» και αφομοιώνουν τα αποπτωτικά κύτταρα ονομάζονται «μακροφάγα του μυκηλίου» και βρίσκονται συχνά εντός των αντιδραστικών βλαστικών κέντρων των λεμφοειδών θυλάκων ή περιστασιακά εντός του θυμικού φλοιού. Τα μυτερά σώματα είναι τα

κομμάτια πυρηνικών υπολειμμάτων από τα αποπτωτικά κύτταρα. Ουσιαστικά, δεν υπάρχει φλεγμονώδης αντίδραση που να σχετίζεται με τη διαδικασία της απόπτωσης, ούτε με την απομάκρυνση των αποπτωτικών κυττάρων, διότι τα αποπτωτικά κύτταρα δεν απελευθερώνουν τα κυτταρικά συστατικά τους στον περιβάλλοντα ιστό, φαγοκυτταρώνονται γρήγορα από τα γύρω κύτταρα αποτρέποντας έτσι, πιθανώς, τη δευτερογενή νέκρωση και τα κύτταρα που «καταπίνουν» δε παράγουν αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (Carneiro et al., 2018).

2.3) Η αυτοφαγία

Οι παρατηρήσεις ότι σε πολλές περιπτώσεις τα κύτταρα που πεθαίνουν έχουν αυξημένους αυτοφαγικούς δείκτες και μορφολογικά χαρακτηριστικά αυτοφαγίας οδήγησαν αρχικά στην πρόταση του αυτοφαγικού κυτταρικού θανάτου. Δεδομένου ότι η αυτοφαγία είναι ένα μονοπάτι που ενεργοποιείται σε συνθήκες κυτταρικού στρες, παραδείγματος χάριν, πείνα ή αυξημένος μεταβολισμός (όπως συμβαίνει στα καρκινικά κύτταρα), δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι τα κύτταρα που υφίστανται θάνατο μετά από στρες παρουσιάζουν επίσης χαρακτηριστικά αυτοφαγίας. Για παράδειγμα, καλλιεργούμενα κύτταρα, που στερούνται παραγόντων επιβίωσης, θα υποστούν απόπτωση, αλλά καθώς περνούν από το στάδιο της λιμοκτονίας, θα ενεργοποιήσουν τον αυτοφαγικό μηχανισμό τους για επιβίωση (Shojaie et al., 2020).

Ενώ ορισμένοι ισχυρισμοί για κυτταρικό θάνατο μέσω αυτοφαγίας ήταν, ενδεχομένως, τεχνητοί, υπάρχουν συσσωρευμένες αποδείξεις για μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ του αποπτωτικού και του αυτοφαγικού μηχανισμού και αρχίζουν να έρχονται στο φως παραδείγματα όπου η αυτοφαγία απαιτείται για την εμφάνιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Όπως αναλύεται παρακάτω, τέτοια παραδείγματα, αν και σχετικά λίγα, φανερώνουν έναν διευρυνόμενο άμεσο ρόλο της αυτοφαγίας στον φυσιολογικό κυτταρικό θάνατο (Carneiro et al., 2018).

Είναι, λοιπόν, σημαντικό να γίνει διάκριση μεταξύ του αν η αυτοφαγία καθορίζει αν ένα κύτταρο πεθαίνει ή όχι ή αν η αυτοφαγία μεταβάλλει τη δυναμική του θανάτου. Οι Shen και Codogno πρότειναν ότι πρέπει να πληρούνται τα ακόλουθα τρία

κριτήρια για να οριστεί ο κυτταρικός θάνατος από αυτοφαγία: (i) ο κυτταρικός θάνατος επέρχεται ανεξάρτητα από την απόπτωση, (ii) υπάρχει αύξηση της αυτοφαγικής ροής και όχι απλώς αύξηση των δεικτών αυτοφαγίας και (iii) η καταστολή της αυτοφαγίας με γενετικά μέσα ή χημικούς αναστολείς, είναι ικανή να αποτρέψει τον κυτταρικό θάνατο. Για την εκπλήρωση αυτών των κριτηρίων, είναι σημαντικό να εκτιμηθεί οριστικά εάν η αυτοφαγία διακόπτεται ή ολοκληρώνεται (Shojaie et al., 2020).

Κατά συνέπεια, απαιτούνται διάφορες προσεγγίσεις για να προσδιοριστεί αν υπάρχει αύξηση της αυτοφαγικής ροής όταν η οδός ολοκληρώνεται, αντί να μετρηθεί η αυτοφαγία με μεθόδους σταθερής κατάστασης, που είναι λιγότερο ικανές να ανιχνεύσουν τη διακοπή (Tsvetkov et al., 2022).

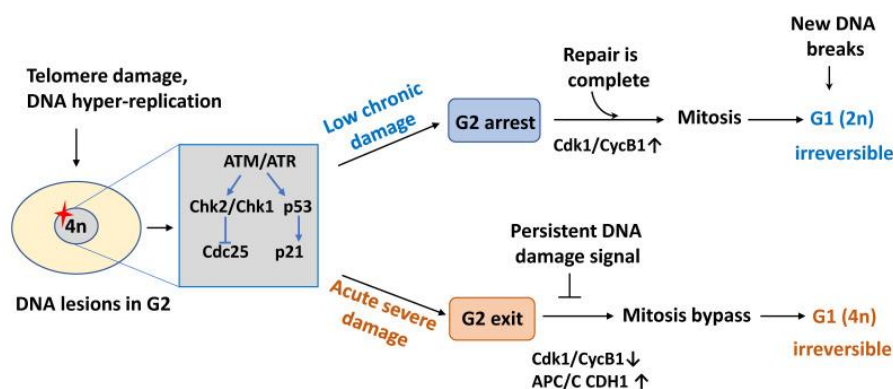
Ένα από τα σημαντικά κριτήρια για την ανάδειξη του αυτοφαγικού κυτταρικού θανάτου είναι η ικανότητα παρεμπόδισης του κυτταρικού θανάτου μέσω αναστολής της αυτοφαγίας. Σήμερα χρησιμοποιούνται διάφοροι αναστολείς και ο καθένας παρουσιάζει τα δικά του μειονεκτήματα. Σε μια πρόσφατη κυτταρική διαλογή για τον προσδιορισμό της κυτταρικής απόκρισης σε μια συλλογή κυτταροτοξικών ενώσεων, διαπιστώθηκε ότι αρκετοί παράγοντες επάγουν την αυτοφαγία., όπως προσδιορίζεται από τα σημεία GFP-LC3. Σε απόκριση σε αυτούς τους παράγοντες, η αναστολή της αυτοφαγίας, μέσω μείωσης της ATG, δεν μπόρεσε να μετριάσει τον κυτταρικό θάνατο. Αυτό υποδηλώνει ότι μεταξύ της συλλογής των 59 κυτταροτοξικών παραγόντων, που ήταν ικανοί να επάγουν αυτοφαγία σε αυτό το *in vitro* μοντέλο, κανένας δεν την προκάλεσε. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αδυναμία ανίχνευσης μιας ένωσης που μπορεί να επάγει αυτοφαγικό κυτταρικό θάνατο, φανερώνει ότι στα ανθρώπινα κύτταρα αυτό το είδος θανάτου είναι σπάνιο (Galluzzi et al., 2018).

2.4) Η κυτταρική γήρανση

Η κυτταρική γήρανση αναφέρεται σε μια κατάσταση όπου τα κύτταρα έχουν χάσει την ικανότητα πολλαπλασιασμού τους, αλλά παραμένουν μεταβολικά ενεργά, είναι βιώσιμα και καταστέλλουν την απόπτωση. Πρόκειται για κατεστραμμένα κύτταρα των οποίων το DNA υπέστη βλάβη και αναγκάστηκαν να εγκαταλείψουν τον κυτταρικό κύκλο. Τα γηρασμένα κύτταρα παρουσιάζουν μοναδικά μορφολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά, καθώς και λειτουργίες που τα διακρίνουν από άλλους μη

διαιρούμενους κυτταρικούς πληθυσμούς, όπως είναι τα κύτταρα που βρίσκονται σε ηρεμία και τα τελικώς διαφοροποιημένα κύτταρα. Στα χαρακτηριστικά της κυτταρικής γήρανσης περιλαμβάνονται παρατεταμένη διακοπή του κυτταρικού κύκλου, μεταγραφικές αλλαγές, απόκτηση ενός βιοδραστικού εκκριτικού φαινοτύπου που σχετίζεται με τη γήρανση (SASP), μακρομοριακή βλάβη και απορυθμισμένος μεταβολισμός (Roger et al., 2021).

Παρόλο που τα αίτια της κυτταρικής γήρανσης ποικίλουν, η αναστολή του μηχανισμού του κυτταρικού κύκλου είναι το καθοριστικό χαρακτηριστικό και είναι κρίσιμο τόσο για την καθιέρωση όσο και για τη διατήρηση όλων των φαινοτύπων της κυτταρικής γήρανσης. Θεωρείται ότι η διακοπή της ανάπτυξης των κυττάρων της γήρανσης πραγματοποιείται μέσω αποκλεισμού από τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G1, για να αποτραπεί η έναρξη της αντιγραφής κατεστραμμένων κυττάρων. Παρουσία βλάβης DNA, τα κύτταρα μπορεί να εγκαταλείψουν τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G2 για να αποφευχθεί η μίτωση. Τα γεγονότα αυτά έχουν ως στόχο να διασφαλίσουν ότι τα κατεστραμμένα ή τροποποιημένα κύτταρα δεν θα διαδώσουν μεταλλάξεις (Roger et al., 2021).



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8658264/>

Εικόνα 5: Σχηματική διαγραμματική απεικόνιση διακοπής του κυτταρικού κύκλου σε γηρασμένα κύτταρα. Σε αντιγραφική γήρανση που είναι αποτέλεσμα χρόνιας μακρομοριακής καταστροφής χαμηλού επιπέδου, τα κύτταρα σταματούν κυρίως στη G2 φάση του κυτταρικού κύκλου, επειδή η μετα-αντιγραφική τριβή των τελομερών ενεργοποιεί, κατά προτίμηση, την απόκριση σε βλάβη του DNA κατά τη μετάβαση G2/M. Μετά την επίλυση της ζημιάς μέσω επιδιόρθωσης ή σωστής μετα-αντιγραφικής επεξεργασίας, η ανάκτηση του σημείου ελέγχου επιτρέπει σε ένα υποσύνολο αυτών των κυττάρων να εισέλθουν στη μίτωση. Ωστόσο, στην επόμενη G1 φάση, τα θυγατρικά κύτταρα, αμετάκλητα, εξέρχονται από τον κυτταρικό κύκλο σε διπλοειδή κατάσταση (2N DNA περιεχόμενο) μετά

τη μίτωση, αν έχουν δημιουργηθεί νέα θραύσματα DNA. Αντίθετα, ένα παρατεταμένο σήμα βλάβης του DNA, προερχόμενο από σοβαρές αλλοιώσεις του DNA, οδηγεί σε έξοδο στη G2 φάση, το APC/C CDH1 ενεργοποιείται πρόωρα ως συνέπεια της συσσώρευσης της p21 και αυτά τα κύτταρα περνούν στη μίτωση με τετραπλάσια ποσότητα DNA (4N DNA περιεχόμενο) και μόνιμα σταματούν στη φάση G1. Cdc2, κυκλίνη B1, APC/C σύμπλοκο/κυκλώσωμα που προάγει την ανάφαση.

Τα κύρια μόρια ελέγχου του κυτταρικού κύκλου είναι οι κυκλίνες, οι κυκλινοελαρτώμενες κινάσες (CDKs), οι κυκλινοεξαρτώμενοι αναστολείς και η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος (RB). Η σηματοδότηση της γήρανσης δρα ελαττώνοντας τη δραστηριότητα του συμπλόκου κυκλίνης-CDK ή αυξάνοντας τα επίπεδα των κυκλινοεξαρτώμενων αναστολέων. Η ρύθμιση των CDKs μέσω της έκφρασης των CDK αναστολέων, συμπεριλαμβανομένων των p21 (CDKN1A), p15 (CDKN2B) και p16 (CDKN2A) είναι ειδικής σημασίας σε όλους τους τύπους κυτταρικής γήρανσης (Roger et al., 2021).

Τα κύτταρα μπορεί να οδηγηθούν σε γήρανση ύστερα από μιτοχονδριακή δυσλειτουργία. Το καθοριστικό χαρακτηριστικό της σε γηρασμένους ιστούς και κύτταρα είναι η μείωση αναπνευστικής ικανότητας ανά μιτοχόνδριο, σε συνδυασμό με μειωμένο δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης σε σταθερή κατάσταση (MMPs). Η διαταραχή της μιτοχονδριακής λειτουργίας, καθώς και της μορφολογίας του μιτοχονδρίου, έχει συσχετιστεί με τη γήρανση και πολλές άλλες παθολογικές καταστάσεις, όπως ο καρκίνος, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, μεταβολικές ασθένειες και νεφρικές παθήσεις. Το μιτοχονδριακό DNA κωδικοποιεί 13 πρωτεΐνες ζωτικής σημασίας για τη μεταφορά ηλεκτρονίων, καθώς και τα γονίδια των υπομονάδων 12S και 16S στο ριβοσωμικό RNA (rRNA) και 22 μεταφορικά RNAs (tRNAs). Βλάβη στο μηχανισμό αντιγραφής του μιτοχονδριακού DNA ή στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης μπορεί να επηρεάσει τη μιτοχονδριακή λειτουργία (Miwa et al., 2022).

Τα κύματα κυτταρικής γήρανσης, ακολουθούμενα από ελεγχόμενο κυτταρικό θάνατο, φαίνεται να συμβάλλουν στην αναπτυξιακή εμβρυογένεση, καθώς και σε πολλαπλές παθοφυσιολογικές διεργασίες σε ενήλικα άτομα. Σε αυτές περιλαμβάνονται η επιδιόρθωση και αναγέννηση των ιστών, η ανοσία, η διατήρηση του διαμερίσματος των βλαστικών κυττάρων και η ογκοκαταστολή. Ειδικότερα, αυτή η ασφαλής

κυτταρική γήρανση φαίνεται να συμβαίνει σαν απάντηση σε: 1) δυνητικά καρκινογόνα γεγονότα, όπως είναι η ενεργοποίηση ογκογονιδίων ή απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων και 2) διάφορες θανατηφόρες κυτταρικές προσβολές, όπως είναι η συντόμευση των τελομερών, η βλάβη του DNA, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και η ελαττωματική αντιγραφή του DNA (Shojaie et al., 2020).

Κατά συνέπεια, η χρόνια κυτταρική γήρανση έχει εμπλακεί στη φυσική γήρανση, στη μείωση της διάρκειας ζωής, στην υποβάθμιση των ιστών και στην αιτιολογία πολλαπλών ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία, όπως είναι η αθηροσκλήρωση και η οστεοαρθρίτιδα. Επιπρόσθετα, τα γερασμένα κύτταρα έχουν ενοχοποιηθεί για τις δυσμενείς επιδράσεις ορισμένων χημειοθεραπευτικών σχημάτων και για την επανεμφάνιση συγκεκριμένων νεοπλασιών, τουλάχιστον σε ποντίκια. Η γήρανση προβάλλει ως ελκυστικός θεραπευτικός στόχος για την παράταση της υγιούς ζωής. Σε αυτό το πλαίσιο, ένα πολλά υποσχόμενο σχήμα βασίζεται στην αυξημένη ευπάθεια των γεροντικών κυττάρων στους αναστολείς της οικογένειας πρωτεϊνών Bcl-2, ιδίως στον Bcl-XL, γεγονός που αντανάκλα την αυξημένη εξάρτηση των κυττάρων αυτών από τις συγκεκριμένες πρωτεΐνες προκειμένου να επιβιώσουν. Ωστόσο, ο ρόλος της οξείας κυτταρικής γήρανσης θέτει αμφιβολίες για την πραγματική σκοπιμότητα αυτής της προσέγγισης (Galluzzi et al., 2018).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

Η ΜΙΤΩΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΗ

Ο όρος μιτωτική καταστροφή (MC) αναφέρεται είτε στον κυτταρικό θάνατο είτε σε μια θνησιγενή πρόδρομη κατάσταση που προκαλείται από ανωμαλίες στη μίτωση. Η μιτωτική καταστροφή μπορεί να συμβεί είτε κατά τη διάρκεια της διαδικασίας είτε μετά από αυτή. Προκαλείται από μία ετερογενή ομάδα ερεθισμάτων, στα οποία περιλαμβάνονται βλάβες στα χρωμοσώματα και διαταραχές στη μιτωτική συσκευή. Όταν τα κύτταρα ανιχνεύουν βλάβη του DNA διακόπτουν τον κυτταρικό κύκλο και μπορεί να υποστούν απόπτωση ή γήρανση. Ωστόσο, όταν τα κύτταρα δεν μπορούν να διατηρήσουν παρατεταμένη σύνδεση στη φάση G2 του κυτταρικού κύκλου, εισέρχονται στη μίτωση πριν ολοκληρωθεί η επιδιόρθωση του DNA. Αυτή η πρόωρη έναρξη της μίτωσης οδηγεί σε μιτωτική καταστροφή και σε απόπτωση (Shojaie et al., 2020).

Οι αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά το στάδιο της μιτωτικής διαίρεσης και στοχεύουν στους μικροσωληνίσκους, επηρεάζουν το σχηματισμό της ατράκτου και οδηγούν επίσης σε μιτωτική καταστριφή. Στην περίπτωση που η μιτωτική καταστροφή έχει επέλθει από κυτταρική σύντηξη ή βλάβη του DNA, ενεργοποιούνται οι κασπάσες -2, -3 και -9, αλλά η μιτωτική καταστροφή μπορεί να προκαλέσει απόπτωση ανεξάρτητα από την ενεργοποίηση των κασπασών. Αυτό συμβαίνει μέσω της ενεργοποίησης του σημείου ελέγχου της ατράκτου σε κύτταρα με ανεπάρκεια Bub 1. Επιπλέον, πολλά προαποπτωτικά μέλη της οικογένειας Bcl-2 εμπλέκονται στη διεκπαιρέωση της μιτωτικής καταστροφής και της επακόλουθης απόπτωσης μέσω της αναστολής της Chk1 (Johnson et al., 2022).

Η οργάνωση των μικροσωληνίσκων είναι απαραίτητη για πολλές κυτταρικές διεργασίες, όπως είναι η ενδοκυτταρική μεταφορά, η διαμόρφωση της μορφολογίας και της κίνησης των κυττάρων και ο σχηματισμός της μιτωτικής ατράκτου. Το κεντροσωμάτιο, το οποίο είναι υπεύθυνο για την οργάνωση των μικροσωληνίσκων, αποτελείται από κεντριόλια που περιβάλλονται από περιοκεντριολικό υλικό (PCM). Η πυρηνοποίηση των μικροσωληνίσκων διαμεσολαβείται από την γ-τουμπουλίνη και από πρόσθετες υπομονάδες που ονομάζονται πρωτεΐνες του γ-συμπλέγματος, οι οποίες εντοπίζονται στο PCM. Η Ninein, μια πρωτεΐνη με σπειροειδή σπείρα που εντοπίζεται στις απολήξεις των κεντριολίων, αλληλεπιδρά με τις GCPs και ρυθμίζει τον εντοπισμό

της γ-τουμπουλίνης και την πυρηνοποίηση των μικροσωληνίσκων. Η πρωτεΐνη PCM-1 της περικεντριολικής μήτρας επηρεάζει την οργάνωση των μικροσωληνίσκων και τον κεντροσωματικό εντοπισμό της p115. Οι πρωτεΐνες AuroraA, TACC3 και TOG εντοπίζονται στην PCM μόνο κατά τη φάση της μίτωσης. Αυτές οι πρωτεΐνες σχηματίζουν ένα σύμπλοκο που ρυθμίζει την οργάνωση της μιτωτικής ατράκτου (Huang et al., 2022).

Λίγες μόνο μελέτες έχουν διερευνήσει τους μηχανισμούς που διέπουν τον κυτταρικό θάνατο ως απόκριση σε ανωμαλίες των κεντροσωματικών πρωτεϊνών που διαταράσσουν την οργάνωση των μικροσωληνίσκων. Σε κυτταρικές σειρές οξείας μυελογενούς λευχαιμίας, ο αναστολέας της κινάσης AuroraVX-680 επάγει κυτταρικό θάνατο που συνοδεύεται από σχηματισμό ανώμαλων μιτωτικών ατράκτων και παύση της φάσης M, δηλαδή της μίτωσης (Shojaie et al., 2020).

Η επίδραση αυτή παρατηρείται επίσης σε κύτταρα που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με siRNA κατά της AuroraA.17 Το VX-680 μειώνει τη φωσφορυλίωση της Akt-1 και αυξάνει την πρωτεολυτική διάσπαση της προκασπάσης-3 και της πολυαδενυλικής ριβόζης της πολυμεράσης-1 (PARP-1). Το VX-680 αύξησε επίσης την αναλογία των πρωτεϊνών Bax/Bcl-2, έναν ευνοϊκό προαποπτωτικό προγνωστικό παράγοντα για την επιβίωση. Η απενεργοποίηση του TACC3 οδηγεί επίσης σε μιτωτική αναστολή και κυτταρικό θάνατο, ο οποίος συνοδεύεται από αποπτωτικά χαρακτηριστικά, όπως η δέσμευση της AnnexinV και η ενεργοποίηση της κασπάσης-3. Ωστόσο, η επαγωγή της μιτωτικής καταστροφής και του επακόλουθου κυτταρικού θανάτου μέσω της αναστολής των κεντροσωματικών πρωτεϊνών δεν έχει διερευνηθεί λεπτομερώς. Επιπλέον, οι διαφορές μεταξύ της μιτωτικής καταστροφής που προκαλείται από βλάβη του DNA ή από ανώμαλο σχηματισμό της ατράκτου δεν έχουν μελετηθεί καλά (Bock & Tait, 2019).

Σε σύγκριση με την απόπτωση, η μιτωτική καταστροφή έχει ελάχιστα διακριτικά χαρακτηριστικά, εκτός από την ίδια τη μίτωση. Αυτό σημαίνει ότι είναι δύσκολο να ανιχνευθεί η μιτωτική καταστροφή ως μορφή κυτταρικού θανάτου. Το κύριο χαρακτηριστικό που σχετίζεται με τη μιτωτική καταστροφή είναι η παρουσία μικροπυρήνων, αλλά οι μικροπυρήνες υποδεικνύουν μόνο ότι τα κύτταρα έχουν υποστεί μια ανώμαλη μίτωση. Ορισμένα κύτταρα με μικροπυρήνες μπορεί να μην υποστούν μιτωτική καταστροφή επειδή επιβιώνουν και δεν πεθαίνουν. Επιπλέον, τα

κύτταρα μπορεί να πεθάνουν απευθείας κατά τη μίτωση και οι μικροπυρήνες δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης για αυτό το είδος κυτταρικού θανάτου. Επομένως, ένας από τους καλύτερους τρόπους για τη μελέτη της μιτωτικής καταστροφής είναι η βιντεομικροσκοπία (time-lapse), για την παρατήρηση των κυττάρων σε πραγματικό χρόνο (Kesavardhana et al., n.d.).

Η μιτωτική καταστροφή μπορεί να προκληθεί από βλάβη του DNA που επηρεάζει άμεσα την ακεραιότητα των χρωμοσωμάτων μέσω παρεμβολής στη μιτωτική άτρακτο ή από ελλείψεις σε πρωτεΐνες και πρωτεϊνικά σύμπλοκα που εμπλέκονται στην ίδια τη διαδικασία της μίτωσης. Φάρμακα όπως οι ταξάνες και τα αλκαλοειδή προκαλούν μιτωτική καταστροφή χωρίς βλάβη του DNA παρεμβαίνοντας στη μιτωτική άτρακτο. Αυτό προκαλεί μιτωτική ανακοπή που ακολουθείται από κυτταρικό θάνατο. Οι ταξάνες σταθεροποιούν τους μικροσωληνίσκους και επάγουν μεταφασική ανακοπή, ενώ τα αλκαλοειδή επάγουν μιτωτική καταστροφή διαταράσσοντας τη δυναμική του πολυμερισμού και αποπολυμερισμού των μικροσωληνίσκων. Η νοκοδαζόλη είναι μια ένωση που αναστέλλει τον πολυμερισμό των μικροσωληνίσκων και χρησιμοποιείται ευρέως ως θετικός έλεγχος για τα μιτωτικά κύτταρα στο εργαστήριο, επειδή σταματά τα κύτταρα στη μίτωση (Karki R, Sharma BR, Tuladhar S, Williams EP, Zalduondo L, Samir P, Zheng M, Sundaram B, Banoth B, Malireddi RKS, Schreiner P, Neale G, Vogel P, Webby R, Jonsson CB, Kanneganti TD. Synergism of TNF- α and IFN- γ Triggers Inflammatory Cell Death, Tissue Damag, n.d.).

Η είσοδος στη μίτωση με κατεστραμμένο DNA προκαλεί μιτωτική καταστροφή μέσω του SAC. Τα κύτταρα HeLa που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με 1,5 μ μαφιδικολίνης εισήλθαν στη μίτωση με κατεστραμμένο DNA και σταμάτησαν στη μετάφαση. Μετά από αυτή τη μεταφασική σύλληψη, τα κύτταρα εισήλθαν σε αυτό που οι συγγραφείς περιγράφουν ως "προκαταστροφική φάση", όπου επιχειρείται ο διαχωρισμός των χρωμοσωμάτων. Αυτό ακολουθήθηκε από τον κυτταρικό θάνατο. Όταν κάποια από τις πρωτεΐνες SAC, Mad2 ή BubR1, εξαντλήθηκε με siRNA σε κύτταρα HeLa που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αφιδικολίνη, τότε τα κύτταρα δεν σταμάτησαν στη μετάφαση και συνέχισαν τη μίτωση. Αυτό αύξησε τη βιωσιμότητα των κυττάρων μετά τη θεραπεία με αφιδικολίνη σε σύγκριση με κύτταρα που είχαν διαμολυνθεί (Kist & Vucic, n.d.).

3.1) Η τρέχουσα αντίληψη

Η μιτωτική καταστροφή έχει περιγραφεί ως μια ανώμαλη μορφή μίτωσης που συνδέεται με διάφορες μορφολογικές και βιοχημικές αλλαγές. Το τελικό στάδιο της μιτωτικής καταστροφής χαρακτηρίζεται σχεδόν πάντα από το σχηματισμό πυρηνικών περιβλημάτων γύρω από μεμονωμένες ομάδες αποδιοργανωμένων χρωμοσωμάτων. Η μιτωτική καταστροφή συσχετίζεται επίσης με ατελή σύνθεση του DNA και πρόωρη συμπίκνωση των χρωμοσωμάτων (PCC). Αρχικά, η PCC δεν συνδεόταν με μιτωτικά συμβάντα, καθώς η εμφάνιση πολυπύρηνων κυττάρων με "κονιορτοποιημένα" χρωμοσώματα παρατηρήθηκε όταν συγχωνεύθηκαν μεσοφασικά και μιτωτικά κύτταρα με τη χρήση του ιού Sendai. Η μεσοφασική χρωματίνη αναγκάστηκε στην περίπτωση αυτή να συμπτυκνωθεί σε διακριτές μονάδες, γνωστές ως πρόωρα συμπτυκνωμένα χρωμοσώματα. Αργότερα, περιγράφηκε ένας άλλος τύπος PCC που εμφανιζόταν μόνο σε ένα κλάσμα των χρωμοσωμάτων της μετάφασης. Αυτή η μεταφασική PCC, που ονομάζεται επίσης αυθόρμητη PCC, εμφανίστηκε σε κύτταρα που διέθεταν μικροπυρήνες ως αποτέλεσμα της επαγόμενης από ακτινοβολία ατελούς σύνθεσης του DNA. Είναι ενδιαφέρον ότι ο σαφώς καθορισμένος τρόπος κυτταρικού θανάτου - η απόπτωση - χαρακτηρίζεται επίσης από συμπίκνωση της χρωματίνης- ωστόσο, η μορφολογία της απόπτωσης διακρίνεται από την μιτωτική καταστροφή και απεικονίζεται με συρρίκνωση του κυτταροπλάσματος και κατακερματισμό του πυρήνα. Στα θερμαινόμενα κύτταρα HeLa, η εμφάνιση αυθόρμητης PCC ακολουθείται από ασύμμετρο διαχωρισμό των χρωματιδικών συστάδων και πρόωρη αναμόρφωση της πυρηνικής μεμβράνης. Στη συνέχεια, αντί για πυρηνικό κατακερματισμό, τα κύτταρα χαρακτηρίζονται από συσσώρευση πολλαπλών μικροπυρήνων που, στη συνέχεια, παρουσιάζουν χαρακτηριστικά παρόμοια με το νεκρωτικό κυτταρικό θάνατο (Merino et al., 2022).

Η μιτωτική καταστροφή έχει επίσης περιγραφεί ως μια καθυστερημένη μορφή αναπαραγωγικού θανάτου με βάση τις παρατηρήσεις ότι τα πολυπύρηνια γιγαντοκύτταρα μπορεί να είναι προσωρινά βιώσιμα. Ο όρος "αναπαραγωγικός θάνατος" δηλώνει την απώλεια της ικανότητας ενός κυττάρου να παράγει βιώσιμους απογόνους που αναπαράγονται συνεχώς. Καθώς τα περισσότερα από τα κύτταρα που

υφίστανται μιτωτική καταστροφή τελικά πεθαίνουν, οι κυτταρικές διεργασίες που οδηγούν σε μη αναστρέψιμη αναστολή της ανάπτυξης και εκείνες που ονομάζονται "αναπαραγωγικός θάνατος" μπορεί να ταιριάζουν καλύτερα σε συνθήκες γνωστές ως γήρανση (Shojaie et al., 2020).

Τα γερασμένα κύτταρα χαρακτηρίζονται γενικά από μείωση της πολλαπλασιαστικής ικανότητας, υιοθέτηση πεπλατυσμένου και διευρυμένου κυτταρικού σχήματος και αύξηση της δραστηριότητας της β-γαλακτοσιδάσης (SA-β-gal). Παρόλο που η γήρανση σχετιζόταν με την μιτωτική καταστροφή, έχει αποδειχθεί ότι τα πολυπλοειδή γιγαντοκύτταρα που εκφράζουν δείκτη γήρανσης (δραστηριότητα SA-β-gal) μπορούν να ξεπεράσουν την κατάσταση αναστολής της ανάπτυξης και ακόμη και να υποστούν αποπολυπλοϊσμό (Rodriguez-Ruiz et al., 2019).

Με βάση τις παρατηρήσεις ότι οι ανωμαλίες στον κυτταρικό κύκλο και τη μίτωση οδηγούν τελικά σε κυτταρικό θάνατο, η μιτωτική καταστροφή έχει οριστεί από μορφολογική άποψη ως μηχανισμός κυτταρικού θανάτου που συμβαίνει κατά τη διάρκεια ή μετά από ανώμαλη μίτωση. Εναλλακτικά, η MC έχει ταξινομηθεί όχι ως τρόπος κυτταρικού θανάτου αλλά ως ειδικό παράδειγμα απόπτωσης. Η ταξινόμηση αυτή βασίζεται στην παρατήρηση ότι η μιτωτική καταστροφή μοιράζεται αρκετά βιοχημικά χαρακτηριστικά με την απόπτωση, δηλαδή τη διαπερατότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης και την ενεργοποίηση της κασπάσης. Ωστόσο, δεν είναι ακόμη σαφές εάν οδηγεί σε θάνατο που απαιτεί μηχανισμούς εξαρτώμενους από την κασπάση ή ανεξάρτητους από αυτή. Μάλιστα, επιχειρήματα έχουν θέσει το γενικότερο ερώτημα αν η MC αποτελεί τρόπο κυτταρικού θανάτου ή αν πρόκειται για διαδικασία που οδηγεί σε απόπτωση ή νέκρωση. Επιπλέον, υπάρχουν αρκετά παραδείγματα που επιτρέπουν τον ορισμό της MC ως μηχανισμού επιβίωσης των κυττάρων των όγκων. Επιπλέον, σε ορισμένες περιπτώσεις, η MC μπορεί να αντιπροσωπεύει μια διαδικασία μέσω της οποίας τα κύτταρα μεταβαίνουν από έναν ανώμαλο σε μιτωτικό κυτταρικό κύκλο. Ίσως λόγω, αυτών των διαφόρων ορισμών, επί του παρόντος, δεν υπάρχει μια γενικά αποδεκτή ταξινόμηση της MC. Εδώ, παρουσιάζουμε στοιχεία που δείχνουν ότι η MC που σχετίζεται με τον θάνατο είναι μια διαδικασία ("prestage") που προηγείται της νέκρωσης ή της απόπτωσης (Duan et al., 2020).

3.2) Ελαττώματα στη μίτωση

Η μιτωτική καταστροφή μπορεί να προκληθεί από φάρμακα που επηρεάζουν άμεσα την πρόοδο της μίτωσης διαταράσσοντας τον σχηματισμό της μιτωτικής ατράκτου και την κυτταρική διαίρεση. Κατά τη διάρκεια της μίτωσης, ο σχηματισμός της μιτωτικής ατράκτου αποτελεί βασικό βήμα για τον ακριβή διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων. Πριν από την κυτταροκίνηση, τα χρωμοσώματα αποκτούν διπολικές συνδέσεις από δύο αντίθετα κεντροσώματα στη μετάφαση και έλκονται προς τους αντίθετους πόλους στην ανάφαση. Τα δηλητήρια της ατράκτου είναι μιτωτικοί αναστολείς που επηρεάζουν τη δυναμική των μικροσωληνίσκων, συνδεόμενοι με διμερή της τουμπουλίνης και εμποδίζοντας είτε τη συναρμολόγησή τους (πολυμερισμός) είτε τη διάλυσή τους (αποπολυμερισμός). Οι παράγοντες υπερπολυμερισμού των μικροσωληνίσκων περιλαμβάνουν τις ταξάνες (πακλιταξέλη, δοσεταξέλη), ενώ τα αλκαλοειδή της βίνκα (βινμπλαστίνη, βινκριστίνη) δρουν ως παράγοντες αποπολυμερισμού. Οι μεταβολές στη δυναμική των μικροσωληνίσκων που προκαλούνται από αυτούς τους παράγοντες οδηγούν σε διαταραχές του σχηματισμού της ατράκτου. Μια ανώμαλη μιτωτική άτρακτος ενεργοποιεί το σημείο ελέγχου της μίτωσης, όπου δημιουργείται ένα σήμα "αναμονής της ανάφασης" στη μετάβαση μετάφασης-αναφάσης. Πολυάριθμες πρωτεΐνες εμπλέκονται στον καταρράκτη σηματοδότησης που ρυθμίζει την πρόοδο του μιτωτικού κύκλου και κεντρική θέση σε αυτή τη διαδικασία κατέχει η καταστολή της δραστηριότητας της λιγάσης-ουβικουιτίνης που μεσολαβεί από το σύμπλοκο προαγωγής της αναφάσης (APC). Τα ελαττώματα στη σηματοδότηση του σημείου ελέγχου παρουσία μιτωτικής αποτυχίας μπορεί να προκαλέσουν αποτυχημένο διπλασιασμό του κεντροσώματος και τελικά πολυπολική μίτωση ή/και πρόωρο διαχωρισμό μη ευθυγραμμισμένων χρωμοσωμάτων, οδηγώντας σε ανομοιόμορφη παράδοση γενετικού υλικού στον κυτταρικό απόγονο (ανευπλοειδία). Η ανευπλοειδία είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό των όγκων και πιθανώς μια εξήγηση για την ετερογένεια των καρκινικών κυττάρων *in vivo*. Ωστόσο, η MC, που εκδηλώνεται με μικροπυρήνωση, μπορεί να εμφανιστεί σε κύτταρα όπου η μίτωση αποτυγχάνει εντελώς και μπορεί επομένως να προηγείται του σχηματισμού ανευπλοειδών κυττάρων. Υπάρχουν αρκετά παραδείγματα που δείχνουν ότι οι απορρυθμίσεις της μίτωσης προάγουν την ανάπτυξη MC. Η απώλεια του μεταγραφικού παράγοντα FoxM1 επηρεάζει γονίδια που είναι απαραίτητα για τον διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων και δημιουργεί ελαττώματα της μιτωτικής ατράκτου και

καθυστερήσεις στη μίτωση και επάγει την MC. Η Survivin είναι μέλος του συμπλόκου των χρωμοσωμικών επιβατών που εμπλέκεται στην προσκόλληση του κινητοχώρου, στο σχηματισμό της διπολικής ατράκτου και στην κυτταροκίνησης. Η αναστολή της survivin σε κύτταρα γλοιώματος ακολουθήθηκε από αυξημένη αυθόρμητη απόπτωση, MC και αναστολή του κυτταρικού κύκλου. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι, όντας στόχος της οξαλιπλατίνης, η υπορρύθμιση της survivin οδηγεί σε MC ή απόπτωση. Οι πρωτεΐνες που σχετίζονται με τους μικροσωληνίσκους (MAPs), όπως οι Op18, XKCM1 και MCAK, είναι ασφαλώς απαραίτητες για τη ρύθμιση του κύκλου εργασιών των μικροσωληνίσκων και οι μεταβολές στα επίπεδα έκφρασης αυτών των πρωτεϊνών δημιουργούν ελαττώματα στο σχηματισμό της μιτωτικής ατράκτου, συμπεριλαμβανομένου του σχηματισμού μονοπολικών, μονοαστρικών και μικρών ατράκτων που μοιάζουν με προμεταφασικές ατράκτους με ανεπαρκώς οργανωμένους πόλους, καθώς και ακατάλληλα συνδεδεμένα χρωμοσώματα. Οι απορρυθμίσεις των MAP συνδέονται με μιτωτική ανακοπή και υπάρχουν παραδείγματα καταστάσεων που μοιάζουν με MC σε επιλεγμένους κυτταρικούς τύπους, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Ωστόσο, δεν έχει ακόμη τεκμηριωθεί μια γενική σύνδεση μεταξύ της λειτουργίας του MAP και της MC. Ειδικότερα, η MC σε απόκριση σε διαταραχές της μιτωτικής ατράκτου ή κατά τη διάρκεια πειραματικών συνθηκών, όπου έχουν εισαχθεί μιτωτικές απορρυθμίσεις, εξαρτάται από το γενετικό υπόβαθρο του κυττάρου. Είναι, επομένως, δελεαστικό να υποθέσουμε ότι τα κύτταρα που είναι επιρρεπή να αποκτήσουν φαινότυπο που μοιάζει με MC σε απόκριση σε δηλητήρια της ατράκτου ή σε ελαττώματα του MAP είναι επίσης ελαττωματικά όσον αφορά τον έλεγχο των μιτωτικών σημείων ελέγχου (Duan et al., 2020).

Η Polo-like κινάση 1 (PLK1) έχει αποδειχθεί ότι διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην εγκαθίδρυση μιας διπολικής ατράκτου. Μια κυρίαρχα αρνητική PLK1 επάγει επιλεκτικά MC σε κύτταρα HeLa. Ωστόσο, αυτό έρχεται σε αντίθεση με μια παρατηρούμενη προαποπτωτική λειτουργία της κυρίαρχα αρνητικής PLK1 σε άλλα καρκινικά κύτταρα, αν και σε μη καρκινικές κυτταρικές σειρές η απορρυθμισμένη PLK1 επάγει μιτωτική αναστολή. Είναι ενδιαφέρον ότι η εξάντληση της hNuf2, μιας πρωτεΐνης του κινητοχώρου που εμπλέκεται στην προσκόλληση των μικροσωληνίσκων, επίσης σταματά τα κύτταρα HeLa και ακολουθείται από μιτωτικό κυτταρικό θάνατο. Έτσι, η μη ορθή συναρμολόγηση της μιτωτικής ατράκτου μαζί με ελαττώματα στη μιτωτική σύλληψη σχετίζεται με την έναρξη της MC. Αν και πολλές

βιοχημικές λεπτομέρειες που οδηγούν στην MC μένει να διευκρινιστούν, το λεγόμενο σημείο ελέγχου αδρανοποίησης του κεντροσώματος παρέχει μια ενδιαφέρουσα σύνδεση μεταξύ βλάβης του DNA, MC και εξέλιξης του μιτωτικού κυτταρικού κύκλου (Birsen & Bouscary, 2022).

3.3) Προσαρμογή σημείου ελέγχου και μιτωτική ολίσθηση

Η προσαρμογή στα σημεία ελέγχου, η οποία περιγράφηκε για πρώτη φορά σε εκκολαπτόμενες ζύμες, είναι η ικανότητα των κυττάρων να εισέρχονται στη μίτωση μετά από μια παρατεταμένη διακοπή του κυτταρικού κύκλου που επιβάλλεται από τα σημεία ελέγχου, παρά την παρουσία επίμονων βλαβών στο DNA. Μια πρωτεΐνη που ρυθμίζεται από το σημείο ελέγχου, η claspin, μεσολαβεί στην ενεργοποίηση της Chk1 όταν αναστέλλεται η αντιγραφή του DNA. Μετά από παρατεταμένη G2/M ανακοπή, η claspin μπορεί να διαχωριστεί από τη χρωματίνη και έτσι να αδρανοποιήσει την Chk1, επιτρέποντας την είσοδο στη μίτωση. Τα κύτταρα που εισέρχονται στη μίτωση μετά την προσαρμογή συλλαμβάνονται στη μετάφαση, γεγονός που μπορεί να αντιπροσωπεύει έναν άλλο μηχανισμό για την ανάπτυξη της MC. Έτσι, η προσαρμογή θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως εναλλακτική διαδικασία εξάλειψης των κυττάρων με μη επιδιορθώσιμες βλάβες (Sen et al., n.d.).

Παρόμοια με την προσαρμογή, η δραστηριότητα των σημείων ελέγχου μπορεί επίσης να χαθεί ως αποτέλεσμα παρατεταμένης μιτωτικής σύλληψης. Μέσω αυτού του μηχανισμού, γνωστού επίσης ως μιτωτική ολίσθηση, τα κύτταρα με αποδιαταγμένη χρωματίνη θα εξέλθουν από τη μίτωση και θα γίνουν τετραπλοειδή. Αν και πολλές μοριακές λεπτομέρειες δεν έχουν ακόμη διευκρινιστεί, ένα κεντρικό γεγονός στη μιτωτική ολίσθηση φαίνεται να είναι η πρωτεοσωματική αποικοδόμηση της κυκλίνης B. Η πρωτεΐνη αυτή οδηγεί τα κύτταρα στη μίτωση μέσω της σύνδεσής της με την Cdk1, όπου η φωσφορυλίωση των λαμινών οδηγεί στην αποσυναρμολόγηση του πυρηνικού περιβλήματος. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα κύτταρα εξέρχονται από τη μίτωση όταν η κυκλίνη B αποικοδομείται από την APC/C. Αυτή η αποικοδόμηση αποτρέπει σε μια ανώμαλη μίτωση και η κυκλίνη B παραμένει σταθερή. Ωστόσο, όταν η ανακοπή παρατείνεται, η κυκλίνη B δεν μπορεί να αποφύγει την αργή αλλά συνεχή πρωτεοσωμική αποικοδόμηση και τα κύτταρα εξέρχονται από τη μίτωση παρουσία χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Μόλις ένα κύτταρο εξέλθει από τη μίτωση

χωρίς κυτταρική διαίρεση, ο πυρηνικός φάκελος στη συνέχεια λόγω αποφωσφορυλίωσης των λαμινών ανασχηματίζεται γύρω από τυχαίες ομάδες χρωμοσωμάτων και τα κύτταρα γίνονται πολυπύρηννα (Duan et al., 2020).

Συνολικά, αν και τα μονοπάτια που οδηγούν σε ανώμαλη μίτωση διαφέρουν ανάλογα με τη φύση των επαγωγέων και την κατάσταση των σημείων ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, η μιτωτική καταστροφή φαίνεται να είναι η κύρια απάντηση ορισμένων κυττάρων θηλαστικών, με ανεπάρκεια σε ρυθμιστές του ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, σε μια ποικιλία μιτωτικών βλαβών (Duan et al., 2020).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

ΣΧΕΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΘΑΝΑΤΟΥ ΜΕ ΤΙΣ ΝΟΣΟΥΣ ΚΑΙ ΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

4.1) Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος στη νευροεκφυλιστική νόσο

Η γήρανση του ανθρώπου συνοδεύεται από εκφυλισμό διαφόρων ιστών που χάνουν μέρος των φυσιολογικών τους λειτουργιών. Ο εκφυλισμός των ιστών συνοδεύεται συχνά από την απώλεια εξειδικευμένων κυτταρικών τύπων. Σε ορισμένες περιπτώσεις, αυτό οφείλεται σε εξάντληση της ικανότητας κυτταρικής διαίρεσης, όπως είναι καλύτερα τεκμηριωμένο για τη γήρανση του ανοσοποιητικού συστήματος και για μέρος του προγράμματος γήρανσης του δέρματος. Σε κυτταρικό επίπεδο, τα φαινόμενα γήρανσης μπορούν να αναπαραχθούν *in vitro* σε κάποιο βαθμό για κύτταρα που προέρχονται από διάφορους ιστούς. Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι οι ανθρώπινοι διπλοειδείς ινοβλάστες, οι οποίοι εμφανίζουν περιορισμένη δυνατότητα πολλαπλασιασμού *in vitro* πριν εισέλθουν σε μια σταθερή αναπτυξιακή παύση, που ορίζεται ως αναπαραγωγική γήρανση. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν περιγραφεί για πρωτογενή ανθρώπινα κερατινοκύτταρα. Επιπλέον, η αναπαραγωγική γήρανση παρατηρήθηκε επίσης σε ανθρώπινα T-λεμφοκύτταρα, ανθρώπινους οστεοβλάστες και ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα, αν και σε αυτές τις περιπτώσεις οι λεπτομέρειες του γεροντικού φαινοτύπου είναι λιγότερο σαφείς (Shojaie et al., 2020).

Έχει αποδειχθεί ότι οι ανθρώπινοι ινοβλάστες σταματούν στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου κατά την είσοδο στη γεροντική κατάσταση, γεγονός που υποδηλώνει ότι η απορρύθμιση της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου μπορεί να συμβάλλει στον φαινότυπο του γήρατος. Η πρόοδος στον κυτταρικό κύκλο ελέγχεται από μια οικογένεια κυκλινοεξαρτώμενων κινασών (cdks), ετεροδιμερή ένζυμα που αποτελούνται από μια καταλυτική υπομονάδα και μια συγκεκριμένη κυκλίνη που χρησιμεύει ως ρυθμιστική υπομονάδα. Η δραστηριότητα των cdks ελέγχεται μέσω κυτταρικών πρωτεϊνών αναστολέων, που αναφέρονται ως cdkis (cyclin-dependent kinase inhibitors), οι οποίες εμποδίζουν την καταλυτική δραστηριότητα συγκεκριμένων cdks μέσω φυσικής σύνδεσης. Αποδείχθηκε ότι η αφθονία των cdks p21(WAF1), p16(INK4A) και p27(KIP1) είναι έντονα αυξημένη στους γηρασμένους

ινοβλάστες, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή των cdk's (Duan et al., 2020).

Ενώ οι αρχικές μελέτες της αναπαραγωγικής γήρανσης επικεντρώνονταν στο γεγονός ότι τα γερασμένα κύτταρα σταματούν να πολλαπλασιάζονται, πιο πρόσφατα υπήρξε αλλαγή παραδείγματος. Υπάρχουν πλέον όλο και περισσότερες ενδείξεις ότι οι αλλαγές που σχετίζονται με την ηλικία στην κυτταρική διαφοροποίηση και την κυτταρική φυσιολογία συμβάλλουν σημαντικά στην απώλεια της λειτουργίας των οργάνων. Σε αυτό το σενάριο, η εμφάνιση λίγων γερασμένων κυττάρων σε έναν δεδομένο ιστό αποτελεί καθοριστικό παράγοντα των μεταβολών της λειτουργίας των ιστών που σχετίζονται με την ηλικία. Αυτό απεικονίζεται καλύτερα με το παράδειγμα των ινοβλαστών του ανθρώπινου δέρματος, οι οποίοι αποδείχθηκε ότι παράγουν λιγότερο κολλαγόνο και εκκρίνουν περισσότερα ένζυμα που αποδομούν τη μήτρα κατά τη διάρκεια της γήρανσης *in vitro*. Αυτό ταιριάζει καλά με την παρατήρηση ότι το δέρμα των ηλικιωμένων ατόμων χαρακτηρίζεται από μειωμένη περιεκτικότητα σε κολλαγόνο, οδηγώντας στις χονδροειδείς αλλαγές στη μορφολογία του δέρματος που είναι γνωστές ως ρυτίδες. Επιπλέον, φάνηκε επίσης ότι οι γηρασμένοι ινοβλάστες εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες αυξητικών παραγόντων που υποστηρίζουν την ανάπτυξη παρακείμενων προνεοπλασματικών κυττάρων. Σε μελέτες σε βιοψίες ανθρώπινου δέρματος, παρατηρήθηκε *in vivo* μια αύξηση των γερασμένων κυττάρων που σχετίζεται με την ηλικία, η οποία μπορεί να εξηγήσει τις αλλαγές στη μορφολογία του δέρματος που σχετίζονται με την ηλικία, καθώς και τις ανεξήγητες μέχρι στιγμής αυξήσεις ορισμένων τύπων καρκίνου του δέρματος που σχετίζονται με την ηλικία (Duan et al., 2020).

Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι το οξειδωτικό στρες είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας της γήρανσης του ανθρώπου *in vivo*, και υπάρχουν όλο και περισσότερες ενδείξεις ότι αυτή η πτυχή της διαδικασίας γήρανσης μπορεί να αναπαραχθεί *in vitro*. Έτσι, έχει αποδειχθεί ότι η αύξηση της συγκέντρωσης των δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS), για παράδειγμα, με την αύξηση της μερικής πίεσης του οξυγόνου ή με την επεξεργασία των κυττάρων με H₂O₂, μπορεί να προκαλέσει πρόωρη γήρανση σε νεαρούς διπλοειδείς ανθρώπινους ινοβλάστες. Οι ανθρώπινοι ινοβλάστες που έχουν υποστεί επεξεργασία με H₂O₂ εμφανίζουν ανακοπή του κυτταρικού κύκλου, χρώση της β-γαλακτοσιδάσης που σχετίζεται με τη γήρανση (SA βgal) και άλλα χαρακτηριστικά αυθόρμητα γηρασμένων κυττάρων. Ενώ τα δεδομένα

αυτά υποδηλώνουν ότι το οξειδωτικό στρες συμβάλλει στον *in vitro* φαινότυπο γήρανσης των ανθρώπινων ινοβλαστών, ο ρόλος των αντιδραστικών ειδών οξυγόνου για τη γήρανση άλλων ανθρώπινων κυτταρικών τύπων μένει να αποσαφηνιστεί (Duan et al., 2020).

Ο αριθμός των νευρώνων δεν μειώνεται σε παγκόσμια κλίμακα κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής γήρανσης στον άνθρωπο ή σε άλλα θηλαστικά, γεγονός που υποδηλώνει γενική απουσία PCD κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής γήρανσης του εγκεφάλου. Ωστόσο, η PCD εμπλέκεται όλο και περισσότερο σε διάφορες νευροεκφυλιστικές ασθένειες που σχετίζονται με τη γήρανση. Ο νευρικός ιστός έχει διάφορες ιδιότητες που μπορεί να συμβάλλουν στην ευαισθησία σε δυσπροσαρμοστική PCD. Για παράδειγμα, στον φυσιολογικό ενήλικο εγκέφαλο, η ενεργοποιημένη κασπάση-3 λειτουργεί στην αναδιαμόρφωση νευρωνικών διεργασιών που είναι σημαντικές για τη συναπτική πλαστικότητα και ορισμένες μορφές μνήμης. Η παρουσία της ενεργοποιημένης κασπάσης-3 μπορεί να δημιουργήσει κίνδυνο για ακατάλληλη ενεργοποίηση της PCD σε νευρώνες που προκαλούνται από στρες. Επιπλέον, ο νευρικός ιστός είναι πλούσιος σε σίδηρο και έχει παρατηρηθεί ότι τα επίπεδα σιδήρου αυξάνονται περαιτέρω με την ηλικία και σε νευροεκφυλιστικές νόσους. Ο σίδηρος μπορεί να προάγει τη χημεία Fenton και το οξειδωτικό στρες, ευνοώντας έτσι την PCD. Οι νευρώνες φαίνεται να καταστέλλουν την PCD εν μέρει χρησιμοποιώντας το μεταβολισμό της γλυκόζης για τη δημιουργία αναγωγικών ισοδυνάμων που αποτρέπουν την οξείδωση και την ενεργοποίηση του κυτοχρώματος c. Αυτό μπορεί να καθιστά τους νευρώνες ιδιαίτερα εύάλωτους στην PCD μετά από μεταβολική διαταραχή (Johnson et al., 2022).

Καθεμία από τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες που σχετίζονται με τη γήρανση, η νόσος του Alzheimer (AD), η νόσος του Parkinson (PD) και η νόσος του Huntington (PD) περιλαμβάνει τη συσσώρευση μη φυσιολογικών πρωτεϊνών και συσσωματωμάτων. Τα πρωτεϊνικά συσσωματώματα καθαρίζονται κανονικά μέσω της οδού της μακροαυτοφαγίας (αυτοφαγία), και η οδός αυτή λειτουργεί επίσης στον κανονικό κύκλο εργασιών των μιτοχονδρίων (μιτοφαγία). Η μη φυσιολογική μιτοχονδριακή λειτουργία και το οξειδωτικό στρες εμπλέκονται στην αιτιολογία κάθε νόσου. Τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η διαταραχή της φυσιολογικής αυτοφαγίας/μιτοφαγίας μπορεί να συμβάλλει στη δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων

και, ως εκ τούτου, να προάγει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (Huang et al., 2022).

Δεν είναι ακόμη σαφές ποιοι είναι οι ακριβείς μηχανισμοί του κυτταρικού θανάτου στις νευροεκφυλιστικές νόσους που σχετίζονται με τη γήρανση. Έχει βρεθεί ότι η αυξημένη ή τροποποιημένη δραστηριότητα του p53 συσχετίζεται με τη νευροεκφυλιστική ασθένεια και μελέτες σε ζωικά μοντέλα εμπλέκουν ένα PARP-εξαρτώμενο μονοπάτι προγραμματισμένης νέκρωσης. Η επανείσοδος στον κυτταρικό κύκλο μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντική. Ο εγκεφαλικός ιστός από ασθενείς με νευροεκφυλιστικές νόσους παρουσιάζει εκτεταμένη ρύθμιση των πρωτεϊνών του κυτταρικού κύκλου, συμπεριλαμβανομένων των CDKs. Μελέτες σε καλλιεργημένα νευρωνικά κύτταρα δείχνουν ότι το οξειδωτικό στρες και η βλάβη του DNA μπορούν να προκαλέσουν μια αποτυχημένη είσοδο στον κυτταρικό κύκλο και επακόλουθη απόπτωση, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτό μπορεί να συμβαίνει και *in vivo*. Συνολικά, οι μελέτες αυτές υποδηλώνουν ότι μόνο ένα υποσύνολο νευρώνων κινδυνεύει να χαθεί από γεγονότα που μοιάζουν με PCD κατά τη γήρανση (Johnson et al., 2022).

4.2) Καταστολή του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου σε καρκινικά και γερασμένα κύτταρα

Ο PCD είναι ένας σημαντικός αντικαρκινικός μηχανισμός και το μονοπάτι p53 είναι ένας κρίσιμος μεσολαβητής αυτής της απόκρισης. Η p53 ενεργοποιείται ως απόκριση σε κυτταρικό στρες, συμπεριλαμβανομένης της βλάβης του DNA και των αυξημένων επιπέδων ROS. Λειτουργώντας ως μεταγραφικός παράγοντας, η p53 ρυθμίζει θετικά την έκφραση προ-αποπτωτικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένου του προ-αποπτωτικού μέλους της οικογένειας Bcl-2 Puma, μετατοπίζοντας έτσι την ισορροπία υπέρ της απόπτωσης (Duan et al., 2020).

Επιπλέον, η πρωτεΐνη p53 μπορεί να μετατοπιστεί με φυσικό τρόπο στα μιτοχόνδρια, όπου προάγει τη διαπερατότητα της μεμβράνης και την απελευθέρωση των μιτοχονδριακών προ-αποπτωτικών παραγόντων. Η σημασία της επαγόμενης από την p53 απόπτωσης ως αντικαρκινικού μηχανισμού υποστηρίζεται από το γεγονός ότι η p53 είναι μεταλλαγμένη στην πλειονότητα των ανθρώπινων καρκίνων. Οι

περισσότερες μεταλλάξεις εντοπίζονται στην περιοχή δέσμευσης του DNA της πρωτεΐνης p53, γεγονός που υποδηλώνει ότι η μεταγραφική δραστηριότητα της p53 είναι ιδιαίτερα σημαντική για την καταστολή του όγκου. Επιπλέον, στους καρκίνους όπου η p53 είναι άθικτη, υπάρχει συνήθως μετάλλαξη σε κάποιο άλλο συστατικό του μονοπατιού της p53 (Ahmed & Tait, n.d.).

Για παράδειγμα, πολλοί καρκίνοι έχουν μεταλλάξεις που προκαλούν αυξημένη έκφραση του αρνητικού ρυθμιστή του p53, MDM2. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η απενεργοποίηση ή η καταστολή του μονοπατιού p53 είναι μία από τις προϋποθέσεις για τον καρκινικό φαινότυπο. Άλλοι καρκίνοι διαπιστώθηκε ότι έχουν δραματικά αυξημένη έκφραση μιας ή περισσότερων πρωτεϊνών θερμικού σοκ (hsps) που μπορούν να συνδεθούν και να αδρανοποιήσουν προ-αποπτωτικούς παράγοντες, όπως ο Araf-1, το κυτταρόχρωμα c και ο AIF. Μειωμένη ευαισθησία στην απόπτωση παρατηρείται σε κύτταρα που απομονώνονται από ασθενείς με το σύνδρομο που μοιάζει με πρόωρη γήρανση και ονομάζεται νόσος του Werner, και αυτό μπορεί να σχετίζεται με την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου που παρατηρείται σε αυτούς τους ασθενείς. Οι περισσότερες χημειοθεραπείες για τον καρκίνο, συμπεριλαμβανομένης της ιονίζουσας ακτινοβολίας, πιστεύεται ότι δρουν υπερδιεγείροντας τα κατά τα άλλα καταπιεσμένα μονοπάτια PCD, συμπεριλαμβανομένης της ενεργοποίησης κάθε εναπομείναντος p53. Σύμφωνα με αυτή την ιδέα, η αποτελεσματικότητα της επαγωγής της απόπτωσης από τη χημειοθεραπεία έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται με την κλινική έκβαση για διάφορους καρκίνους. Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι άλλες μελέτες υποδηλώνουν ότι, τουλάχιστον για ορισμένους τύπους κυττάρων, η ογκοκατασταλτική λειτουργία της p53 είναι ανεξάρτητη από τη μεταγραφική επαγωγή της απόπτωσης και, αντίθετα, μπορεί να περιλαμβάνει τη ρύθμιση της επιδιόρθωσης του DNA ή/και του μεταβολισμού από την p53. Τέλος, μια πολλά υποσχόμενη θεραπεία για τον καρκίνο είναι η θεραπεία με TRAIL (tumornecrosisfactor-relatedapoptosis-inducingligand). Το TRAIL είναι μια κυτταροκίνη που απαντάται στη φύση και συνδέεται με τους υποδοχείς θανάτου DR4 και DR5 για να ενεργοποιήσει την εξωγενή οδό απόπτωσης και το κάνει αυτό κατά προτίμηση στα καρκινικά κύτταρα (Johnson et al., 2022).

Η κυτταρική γήρανση είναι επίσης ένας σημαντικός αντικαρκινικός μηχανισμός. Η κυτταρική γήρανση είναι μια μη αναστρέψιμη διακοπή του κυτταρικού κύκλου που μπορεί να προκύψει από επαναλαμβανόμενες κυτταρικές διαιρέσεις και

διάβρωση των τελομερών, καθώς και από ενεργοποιημένα ογκογονίδια, διαταραγμένη δομή της χρωματίνης και οξειδωτικό στρες. Η ενεργοποίηση του p53 μπορεί να προκαλέσει στα κύτταρα είτε απόπτωση είτε κυτταρική γήρανση ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου και τη φύση του στρες. Τα γερασμένα κύτταρα είναι ανθεκτικά στην απόπτωση και αυτός μπορεί να είναι ένας λόγος που παρατηρείται συσσώρευση γερασμένων κυττάρων κατά τη γήρανση σε διάφορους ιστούς. Τα γεροντικά κύτταρα εμφανίζουν έναν "εκκριτικό φαινότυπο που σχετίζεται με τη γήρανση" (SASP) και περιλαμβάνει την απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και ενζύμων που αποδομούν την εξωκυττάρια μήτρα. Εξαιτίας αυτού, η συσσώρευση γεροντικών κυττάρων κατά τη γήρανση ενοχοποιείται ως αιτιολογικός παράγοντας για τη φλεγμονή που σχετίζεται με τη γήρανση και τις διαταραχές της ECM. Η αντίσταση στην απόπτωση έχει εξεταστεί σε γερασμένους ανθρώπινους ινοβλάστες *in vitro*. Τα κύτταρα αυτά αποτυγχάνουν να μειώσουν τα επίπεδα Bcl-2 σε αποπτωτικά ερεθίσματα, συμπεριλαμβανομένης της πείνας με ορό και του οξειδωτικού στρες, και έχουν μειωμένη έκφραση της κασπάσης-3 και αυξημένη έκφραση του αντι-αποπτωτικού παράγοντα Bcl-xL. Η αντίσταση των γερασμένων κυττάρων στην απόπτωση θα μπορούσε επίσης να περιλαμβάνει την καθοδική ρύθμιση παραγόντων του κυτταρικού κύκλου που συμμετέχουν τόσο στην κυτταρική διαίρεση όσο και στον κυτταρικό θάνατο. Πρόσφατα έχουν περιγραφεί τόσο γενετικές όσο και χημικές παρεμβάσεις που μπορούν να σκοτώσουν κατά προτίμηση τα γερασμένα κύτταρα *in vivo* σε ποντίκια και οι παρεμβάσεις αυτές είχαν οφέλη για την υγεία σε μοντέλα ποντικών με αυξημένα επίπεδα γερασμένων κυττάρων. Παρά τις πιθανές αρνητικές επιπτώσεις της αύξησης της αφθονίας των γερασμένων κυττάρων, η κυτταρική γήρανση έχει αναδειχθεί σε σημαντικό θεραπευτικό στόχο στον καρκίνο. Η χημειοθεραπεία του καρκίνου και η ιονίζουσα ακτινοβολία μπορούν να προκαλέσουν είτε απόπτωση είτε κυτταρική γήρανση ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου και έχει αποδειχθεί ότι και τα δύο αποτελέσματα συσχετίζονται θετικά με τα κλινικά αποτελέσματα (Johnson et al., 2022).

4.3) Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος στη φυσιολογική ανάπτυξη των ιστών, την ομοιοστάση των ενηλίκων και τη γήρανση

Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο κατά την ανάπτυξη του ανθρώπου, συμπεριλαμβανομένης της καταστροφής των κυττάρων για τη δημιουργία των χώρων μεταξύ των δακτύλων των χεριών και των ποδιών και των δομών του εγκεφάλου. Στον ενήλικα, ο PCD απαιτείται για τη φυσιολογική εναλλαγή των κυττάρων σε πολυάριθμους ιστούς που διατηρούνται με κυτταρική διαίρεση, όπως το εντερικό επιθήλιο, το αίμα, η επιδερμίδα, οι νεφροί και οι πνεύμονες. Έχει υπολογιστεί ότι περίπου 10 δισεκατομμύρια κύτταρα δημιουργούνται στον ενήλικα κάθε μέρα για να αντικαταστήσουν εκείνα που αντικαθίστανται από τον PCD. Η γήρανση φαίνεται να σχετίζεται με λανθασμένη ρύθμιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, με την έννοια ότι ο PCD φαίνεται να είναι πιο ενεργή από τη βέλτιστη σε ορισμένους τύπους κυττάρων και λιγότερο ενεργή από τη βέλτιστη σε άλλους τύπους κυττάρων (Kist & Vucic, n.d.).

Η γήρανση σχετίζεται με μειωμένο PCD σε διάφορους κυτταρικούς τύπους. Για παράδειγμα, στον άνθρωπο, η γήρανση προκάλεσε μειωμένη έκφραση γονιδίων απόπτωσης και αυξημένη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη γήρανση σε λιπώδη μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα. Ομοίως, σε ποντίκια, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα του μυελού των οστών είχαν μειωμένη έκφραση τόσο των γονιδίων του κυτταρικού κύκλου όσο και των γονιδίων PCD κατά τη γήρανση. Παρατηρήθηκε μείωση της απόκρισης στον PCD με την ηλικία στο ήπαρ αρουραίων που υποβλήθηκαν σε πρόκληση με τον βλαπτικό για το DNA παράγοντα μεθανοσουλφονικό μεθύλιο (MMS) και αυτός ο μειωμένος PCD συσχετίστηκε με αυξημένη φωσφορυλίωση των ERKs (πρωτεϊνικές κινάσες ρυθμιζόμενες από το εξωκυτταρικό σήμα) στους ιστούς των ηλικιωμένων ζώων. Η πρόκληση ακτινοβολίας θα προκαλέσει απόπτωση σε απομονωμένα λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος και η απόκριση αυτή είναι σημαντικά μειωμένη σε κύτταρα που απομονώνονται από γηραιά ποντίκια, καθώς και σε κύτταρα που απομονώνονται από ηλικιωμένους ανθρώπινους ασθενείς. Σύμφωνα με αυτές τις παρατηρήσεις, ο ανθρώπινος ορός παρουσιάζει μείωση των δεικτών απόπτωσης κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής γήρανσης (Sia et al., 2020).

Στον άνθρωπο ο αγγειακός τραυματισμός μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό νεοϊντίματος (ουλής). Η αντίδραση αυτή είναι μεγαλύτερη στους ηλικιωμένους ασθενείς, εν μέρει λόγω του υπερβολικού πολλαπλασιασμού και της μειωμένης απόπτωσης των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων (VSMCs), ενώ το ίδιο αποτέλεσμα παρατηρείται και στα γηράσκοντα ποντίκια. Είναι ενδιαφέρον ότι η μειωμένη απόπτωση στα VSMCs κατά τη γήρανση μπορεί να περιλαμβάνει μειωμένη σηματοδότηση από τα παρακείμενα ενδοθηλιακά κύτταρα (Bedoui et al., 2020).

Ο σωστά ρυθμιζόμενος προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος και η φαγοκυττάρωση των κυτταρικών υπολειμμάτων που προκύπτουν απαιτείται για την πρόληψη μιας ακατάλληλης ανοσολογικής απόκρισης. Οι σχετιζόμενες με τη γήρανση διαταραχές της ρύθμισης του PCD και της φαγοκυττάρωσης μπορεί να συμβάλλουν στη σχετιζόμενη με τη γήρανση φλεγμονή, συμπεριλαμβανομένης της ενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού NFκB. Επειδή η σηματοδότηση του NFκB μπορεί να είναι είτε προ-αποπτωτική είτε αντι-αποπτωτική ανάλογα με το κυτταρικό πλαίσιο, αυτό θα μπορούσε να συνδέσει τη φλεγμονή με περαιτέρω μεταβολές του PCD σε ορισμένους ιστούς (Broz et al., 2019).

Ορισμένοι τύποι κυττάρων χαρακτηρίζονται από αυξημένο PCD κατά τη γήρανση. Η απόπτωση διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και στην ανοσολογική ομοιόσταση των ενηλίκων. Η απόπτωση λειτουργεί στην επιλογή των T-κυττάρων στο θύμο και στη διαγραφή των αυτοαντιδραστικών T- και B-κυττάρων. Επιπλέον, η απόπτωση απαιτείται για τη ρύθμιση της ανοσολογικής μνήμης και για τη μείωση του αριθμού των T κυττάρων-ενεργών μετά από μια ανοσολογική απόκριση. Τέλος, τα κύτταρα φυσικοί φονείς και τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα σκοτώνουν κύτταρα-στόχους επάγοντας απόπτωση, για παράδειγμα κύτταρα-στόχους μολυσμένα από ιούς. Κατά τη διάρκεια της γήρανσης παρατηρείται σημαντική απώλεια κυττάρων στο θύμο (θυμοειδίκευση) και στο μυελό των οστών, η οποία συνδέεται με μια σχετιζόμενη με την ηλικία αύξηση του αριθμού των αποπτωτικών λεμφοκυττάρων. Η αυξημένη απόπτωση εμπλέκεται στη σχετιζόμενη με την ηλικία μείωση των υποτύπων T-κυττάρων στο ανθρώπινο ανοσοποιητικό σύστημα (T-κυτταρική λεμφοπενία), συμπεριλαμβανομένων τόσο των CD4+ όσο και των CD8+ T-κυττάρων. Αντίθετα, μελέτες in vitro αναφέρουν ότι ορισμένοι υπότυποι T-κυττάρων (CD8+ CD28-) που προκύπτουν από επαναλαμβανόμενη ανοσολογική διέγερση παρουσιάζουν αλλαγές που μοιάζουν με

γήρανση και περιλαμβάνουν μειωμένη απόκριση στο στρες και αντίσταση στην απόπτωση. Η γήρανση στην καρδιά των θηλαστικών χαρακτηρίζεται από απώλεια μυοκυττάρων και υπερτροφία των εναπομεινάντων μυοκυττάρων. Τόσο οι αποπτωτικοί όσο και οι νεκρωτικοί μηχανισμοί εμπλέκονται στην απώλεια μυοκυτταρικών κυττάρων κατά τη φυσιολογική γήρανση της καρδιάς καθώς και στην καρδιακή ανεπάρκεια (Huang et al., 2022).

Η απόπτωση είναι ζωτικής σημασίας για την επούλωση των τραυμάτων και η επούλωση των τραυμάτων είναι γενικά μειωμένη κατά τη γήρανση, συχνά σε συνδυασμό με τοπική φλεγμονή. Για παράδειγμα, η λανθασμένη ρύθμιση της απόπτωσης έχει ενοχοποιηθεί για την αύξηση της ινωτικής πνευμονοπάθειας λόγω ηλικίας με δύο τρόπους: η αυξημένη ευαισθησία στην απόπτωση στα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερη βλάβη, ενώ η μειωμένη ευαισθησία στην απόπτωση στους ινοβλάστες και τους μυοϊνοβλάστες μπορεί να προάγει την ίνωση (Lei et al., n.d.).

Συνοπτικά, οι διαταραχές της συστημικής και διακυτταρικής σηματοδότησης που σχετίζονται με τη γήρανση σε συνδυασμό με κυτταρικές αυτόνομες επιδράσεις έχουν ως αποτέλεσμα αυξημένη ευαισθησία στον PCD σε ορισμένους τύπους κυττάρων και μειωμένο PCD σε άλλους τύπους κυττάρων. Μια πιθανή ερμηνεία αυτών των αποτελεσμάτων είναι ότι η γενική μείωση των δεικτών PCD κατά τη γήρανση μπορεί να οφείλεται εν μέρει στην επιβράδυνση του φυσιολογικού ομοιοστατικού ρυθμού κυτταρικής εναλλαγής για αρκετούς ενήλικους ιστούς. Για παράδειγμα, δραματικά μειωμένος ρυθμός κυτταρικής εναλλαγής με την ηλικία παρατηρείται για το δέρμα, και μειωμένοι ρυθμοί κυτταρικής εναλλαγής με την ηλικία αναφέρονται επίσης για το επιθήλιο του μαστού της καρδιάς και την υπόφυση. Ταυτόχρονα, οι μεταβολές στη συστηματική σηματοδότηση, συμπεριλαμβανομένης της φλεγμονής και των διαταραχών της ECM, μπορεί να συνδυάζονται με κυτταροαυτόνομες αλλαγές, όπως το αυξημένο οξειδωτικό στρες και η γονιδιωματική βλάβη, ώστε να καθιστούν ορισμένους τύπους κυττάρων πιο ευαίσθητους στην PCD, ιδίως όταν προκαλούνται από οξύ ή χρόνιο στρες (Johnson et al., 2022).

4.4) Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος στη ρύθμιση της διάρκειας ζωής

Επειδή ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος απαιτείται για τη φυσιολογική ομοιόσταση των ιστών στον ενήλικα, αναμένεται να είναι σημαντικός για τη βέλτιστη διάρκεια ζωής σε είδη όπως τα θηλαστικά, όπου πολλαπλοί ιστοί διατηρούνται με συνεχή κυτταρική εναλλαγή. Αντίθετα στον *C. elegans* όλα τα ενήλικα σωματικά κύτταρα είναι μετα-μιτωτικά. Τα *C. elegans* περιέχουν ένα μόνο γονίδιο κασπάσης-3 (*ced-3*) που απαιτείται για τον αναπτυξιακά ρυθμιζόμενο PCD. Αναφέρθηκε ότι η μετάλλαξη του *ced-3* δεν επηρεάζει τη διάρκεια ζωής των ενηλίκων, γεγονός που υποδηλώνει ότι η διάρκεια ζωής των *C. elegans* δεν ρυθμίζεται από έναν κανονικά εξαρτώμενο από την κασπάση PCD, ωστόσο δεν μπορεί ακόμη να αποκλειστεί ένας πιθανός ρόλος του ανεξάρτητου από την κασπάση PCD ή των οδών νέκρωσης στη ρύθμιση της διάρκειας ζωής των *C. elegans*. Ενδιαφέρον είναι ότι πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι η εξαρτώμενη από την κανονική κασπάση οδός PCD του *C. elegans* απαιτείται για την αύξηση της διάρκειας ζωής που προκαλείται από μεταλλάξεις του ETC και την οπισθοδρομική σηματοδότηση ROS, χωρίς εμφανή PCD. Τα δεδομένα υποδηλώνουν μια δυνητικά αρχαία λειτουργία για το μονοπάτι στη διαμεσολάβηση της οπισθοδρομικής μιτοχονδριακής σηματοδότησης ROS και της τροποποιημένης έκφρασης πυρηνικών γονιδίων ανεξάρτητα από τη λειτουργία του στη ρύθμιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (Karki R, Sharma BR, Tuladhar S, Williams EP, Zalduondo L, Samir P, Zheng M, Sundaram B, Banoth B, Malireddi RKS, Schreiner P, Neale G, Vogel P, Webby R, Jonsson CB, Kanneganti TD. Synergism of TNF- α and IFN- γ Triggers Inflammatory Cell Death, Tissue Damag, n.d.).

Στη *Drosophila*, τόσο το έντερο όσο και τα σωληνάρια Malphigian (ισοδύναμα με τους νεφρώνες των νεφρώνων) διατηρούνται με τη διαίρεση των βλαστικών κυττάρων και την κυτταρική εναλλαγή, ωστόσο δεν έχει ακόμη καθοριστεί αν ο ρυθμός της κυτταρικής εναλλαγής είναι σημαντικός για τη φυσιολογική μακροζωία. Η υπερέκφραση των αναστολέων της κασπάσης *p35* και *DIAP1* σε ενήλικες μύγες δεν επηρέασε τη διάρκεια ζωής, γεγονός που υποδηλώνει ότι η διάρκεια ζωής των ενηλίκων μυγών δεν περιορίζεται από μια κανονική εξαρτώμενη από την κασπάση PCD, ωστόσο δεν μπορεί ακόμη να αποκλειστεί ένας πιθανός ρόλος των ανεξάρτητων από την

κασπάση μονοπατιών PCD ή νέκρωσης στη ρύθμιση της διάρκειας ζωής των ενήλικων μυγών (Johnson et al., 2022).

Στα θηλαστικά ο PCD απαιτείται για τη φυσιολογική ανάπτυξη και την ομοιόσταση των ενήλικων ιστών, γεγονός που περιπλέκει τη διερεύνηση των πιθανών ρόλων του PCD στη ρύθμιση της διάρκειας ζωής των θηλαστικών. Τα φάρμακα που αναστέλλουν το προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο και τη νέκρωση υπόσχονται πιθανές παρεμβάσεις σε τραυματισμούς και ασθένειες, ωστόσο δεν υπάρχουν ακόμη αναφορές για οφέλη στη φυσιολογική μακροζωία (Johnson et al., 2022).

4.5) Γιατί ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ρυθμίζεται λανθασμένα κατά τη γήρανση;

Υπάρχουν διάφορες πτυχές του PCD που μπορεί να καθιστούν τη διαδικασία αυτή ιδιαίτερα ευαίσθητη σε διαταραχές κατά τη γήρανση. Πρώτον, όπως συζητήθηκε παραπάνω, ο PCD στα θηλαστικά είναι μια εξαιρετικά ρυθμιζόμενη διαδικασία που αποτελεί κλειδί για την ομοιόσταση πολλών ιστών, συμπεριλαμβανομένου του ανοσοποιητικού συστήματος, και επομένως ρυθμίζεται από πολλές εισροές. Αυτές οι εισροές περιλαμβάνουν πολλαπλά ορμονικά, ECM και κυτταρικά-κυτταρικά σήματα, παρέχοντας έτσι πολλούς πιθανούς στόχους για διαταραχές που σχετίζονται με τη γήρανση. Δεύτερον, η φυσιολογική ρύθμιση του PCD περιλαμβάνει μια λεπτή ισορροπία πολλαπλών παραγόντων pro-PCD και anti-PCD και τα κύτταρα εμφανίζονται έτοιμα για προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο μετά από κατάλληλη σηματοδότηση. Αυτό μπορεί να καθιστά τα μονοπάτια PCD ιδιαίτερα ευάλωτα σε δυσπροσαρμοστικά σήματα κατά τη γήρανση. Τρίτον, ο σημαντικός ρόλος των μιτοχονδρίων και των ROS στον PCD είναι πιθανώς ένας παράγοντας, επειδή τα μιτοχόνδρια φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στη βλάβη και τη δυσλειτουργία κατά τη γήρανση σε όλα τα είδη (Johnson et al., 2022).

Διάφορες πτυχές της παρατηρούμενης κακής ρύθμισης του PCD κατά τη γήρανση υποστηρίζουν την ιδέα ότι η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία είναι ένας βασικός υποκείμενος παράγοντας. Πρώτον, τα μιτοχόνδρια εμπλέκονται όλο και περισσότερο

στη ρύθμιση του PCD σε όλα τα είδη και η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία είναι συνεπής είτε με αυξημένο είτε με μειωμένο PCD, ανάλογα με το κυτταρικό πλαίσιο. Στους ανθρώπους η παρατηρούμενη συστηματική μείωση των δεικτών PCD κατά τη γήρανση είναι πιθανό να συνδέεται με τη μείωση του ρυθμού κυτταρικής εναλλαγής που παρατηρείται σε ιστούς με υψηλή μιτωτική ικανότητα, όπως το δέρμα και το αίμα. Αυτή η παγκόσμια μείωση της συντονισμένης κυτταρικής γέννησης και του PCD μπορεί με τη σειρά της να είναι αποτέλεσμα της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και της σχετιζόμενης με τη γήρανση μείωσης του μεταβολικού ρυθμού ηρεμίας. Ο μεταβολισμός των κυττάρων συνδέεται με τον μεταβολισμό του οργανισμού και κατά τη γήρανση η μεταβολική ικανότητα μπορεί να καταστεί ανεπαρκής για την υποστήριξη του ισχυρού κύκλου εργασιών των ιστών με υψηλή μιτωτική ικανότητα. Ταυτόχρονα, οι αποτυχίες στη συντήρηση των μιτοχονδρίων που σχετίζονται με τη γήρανση, όπως ο μειωμένος ρυθμός κύκλου εργασιών των μιτοχονδρίων (μιτοφαγία), μπορεί να προδιαθέτουν τα μιτοχόνδρια στην απώλεια του δυναμικού της μεμβράνης και στη διαπερατότητα της μεμβράνης που προάγουν τον PCD, οδηγώντας σε αυξημένο PCD σε κυτταρικούς τύπους όπως ο μυς. Η μειωμένη μιτοφαγία θα έχει ως αποτέλεσμα πιο μακροχρόνια και πιο επιρρεπή σε βλάβες μιτοχόνδρια και η μειωμένη μιτοφαγία σχετίζεται με τη γήρανση σε πολλά είδη. Το μιτοχονδριακό γονιδίωμα έχει υψηλό ποσοστό μεταλλάξεων και οι μιτοχονδριακές μεταλλάξεις ενοχοποιούνται όλο και περισσότερο για τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία κατά τη γήρανση. Επειδή η μιτοφαγία είναι σημαντική για τον καθαρισμό των μεταλλαγμένων μιτοχονδριακών γονιδιωμάτων από το κύτταρο, η μείωση της μιτοφαγίας με την ηλικία μπορεί να εμπλέκεται στη συσσώρευση μεταλλαγμένων μιτοχονδριακών γονιδιωμάτων που ευνοούν τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, συμπεριλαμβανομένης του δυσπροσαρμοστικού PCD. Τέλος, η μονογονεϊκή κληρονομικότητα των μιτοχονδριακών γονιδιωμάτων μπορεί να δημιουργήσει γενετικές συγκρούσεις (σεξουαλική ανταγωνιστική πλειοτροπία) που προκαλούν τις μιτοχονδριακές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης του PCD, να είναι ιδιαίτερα ευάλωτες σε διαταραχές που σχετίζονται με τη γήρανση, συμπεριλαμβανομένης της κακής ρύθμισης με βάση το φύλο (Kist & Vucic, n.d.).

4.6) Ο ρόλος του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου στη γήρανση του ανθρώπου

Ο αποπτωτικός κυτταρικός θάνατος παίζει προφανώς σημαντικό ρόλο κατά τη γήρανση διαφόρων ιστών *in vivo* και πρόσφατα αποδείχθηκε ότι ποντίκια με γενετικό ελάττωμα στην απόπτωση που σχετίζεται με το στρες εμφανίζουν σημαντικά επαγόμενη διάρκεια ζωής. Η βλάβη των ιστών που προκαλείται από την εξαρτώμενη από την ηλικία απόπτωση έχει τεκμηριωθεί σε πειραματόζωα για τον εγκέφαλο, το εσωτερικό αυτί και το ωχρό σωματίο. Ομοίως, έχει προταθεί ότι η σχετιζόμενη με την ηλικία απόπτωση των T-λεμφοκυττάρων είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας της ανοσολογικής γήρανσης στον άνθρωπο. Από την άλλη πλευρά, θεωρείται ότι η απόπτωση παίζει σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση των ιστών και ότι η αποτυχία των κυττάρων να ασκήσουν το πρόγραμμα απόπτωσης μπορεί επίσης να οδηγήσει σε διαταραχές που συσσωρεύονται κατά τη γήρανση. Για παράδειγμα, προτάθηκε ότι η μειωμένη αποτελεσματικότητα της απόπτωσης συμβάλλει στις μεταβολές που χαρακτηρίζουν την ενδογενή (χρονολογική γήρανση) και την εξωγενή (φωτογήρανση) γήρανση του δέρματος. Συνολικά, τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η ρύθμιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για τη διαδικασία γήρανσης *in vivo*, ωστόσο, ο ρόλος της απόπτωσης για τη γήρανση μπορεί να διαφέρει μεταξύ των διαφόρων ιστών (Duan et al., 2020).

Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος (απόπτωση) μπορεί να προκληθεί από μια μεγάλη ποικιλία περιβαλλοντικών ερεθισμάτων και η αποπτωτική απόκριση ενός συγκεκριμένου κυττάρου τροποποιείται από μια πληθώρα κυτταρικών γονιδιακών προϊόντων. Σε κυτταρικό επίπεδο, το ζήτημα της απόπτωσης που σχετίζεται με την ηλικία είναι αμφιλεγόμενο. Από τη μία πλευρά, περιγράφηκε ότι τα ανθρώπινα T κύτταρα που απομονώθηκαν από ηλικιωμένα άτομα εμφανίζουν αυξημένη απόπτωση και η απόπτωση εμφανίζεται *in vitro* μετά από παρατεταμένη καλλιέργεια CD4⁺ T κυττάρων. Από την άλλη πλευρά, η ανάπτυξη αντίστασης στην απόπτωση συζητείται επίσης ως βασικός μηχανισμός της ανοσολογικής γήρανσης και οι γερασμένοι ινοβλάστες, οι οποίοι δεν εμφανίζουν σημαντική αυθόρμητη απόπτωση, είναι ακόμη και ανθεκτικοί στα προαποπτωτικά σήματα. Ομοίως, δεν ανιχνεύθηκε αύξηση του ρυθμού απόπτωσης κατά τη διάρκεια της *in vitro* γήρανσης των ανθρώπινων

κερατινοκυττάρων. Μια πρόσφατη μελέτη εξηγεί περαιτέρω το φαινόμενο της αντίστασης στην απόπτωση στους γερασμένους ινοβλάστες. Οι Seluanov et al. απέδειξαν ότι οι γερασμένοι ανθρώπινοι ινοβλάστες είναι πράγματι ανθεκτικοί στην απόπτωση, όταν η απόπτωση επάγεται με παράγοντες που είναι γνωστό ότι ενεργοποιούν την p53. Στην εν λόγω μελέτη, η αδυναμία των γερασμένων ινοβλαστών να υποστούν p53-εξαρτώμενη απόπτωση οφειλόταν στην αδυναμία των γερασμένων ινοβλαστών να ενεργοποιήσουν μονοπάτια που οδηγούν στη σταθεροποίηση της p53. Όταν οι γερασμένοι ινοβλάστες υποβάλλονται σε θεραπεία με παράγοντες που κανονικά θα επάγουν την p53, όπως η ακτινομυκίνη D ή η υπερϊώδης ακτινοβολία, αυτό προκαλεί έναν μη αποπτωτικό τύπο κυτταρικού θανάτου, δηλαδή νέκρωση. Ωστόσο, τα ανεξάρτητα από την p53 σήματα είναι ικανά να επάγουν απόπτωση στους γερασμένους ινοβλάστες (Shojaie et al., 2020).

Για τη γήρανση του αγγειακού συστήματος, ο ιστοκαταστροφικός ρόλος της απόπτωσης είναι καλά τεκμηριωμένος. Η αρτηριοσκλήρυνση, μια σημαντική ασθένεια του ανθρώπου που σχετίζεται με την ηλικία, συνοδεύεται από εκφυλισμό των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων και των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων λόγω προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Στο πλαίσιο αυτό, η ενεργοποίηση της κυτταρικής οδού αυτοκτονίας που οδηγεί στην απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων αποτελεί ένα αρχικό βήμα στην ανάπτυξη αρτηριοσκληρωτικών βλαβών. Αυξημένη συχνότητα απόπτωσης *in vitro* παρατηρήθηκε επίσης όταν αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα από ανθρώπινες αθηρωματικές πλάκες αναπτύχθηκαν *in vitro* και συγκρίθηκαν με κύτταρα ελέγχου. Ενώ υπάρχουν αδιάσειστα στοιχεία ότι ο κυτταρικός θάνατος μέσω απόπτωσης συμβάλλει στην αγγειακή βλάβη υπό παθολογικές συνθήκες (π.χ. αρτηριοσκλήρωση), ο ρόλος της απόπτωσης κατά τη φυσιολογική γήρανση των αγγείων μένει να αποδειχθεί. Η διαπίστωσή μας ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα υφίστανται απόπτωση που σχετίζεται με την ηλικία κατά τη γήρανση *in vitro* μπορεί να αποτελέσει ένα καλό σύστημα-μοντέλο για την περαιτέρω μελέτη αυτού του θέματος (Duan et al., 2020).

4.7) Απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων λόγω ηλικίας

Για να δημιουργηθεί ένα σύστημα μελέτης της αγγειακής γήρανσης σε μοριακό επίπεδο, αναπτύχθηκαν ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας (HUVEC) σε αναπαραγωγική γήρανση και έγινε σύγκριση των κυττάρων αυτών με το πρότυπο μοντέλο γήρανσης με ινοβλάστες. Διαπιστώθηκε ότι, σε αντίθεση με τους γερασμένους ινοβλάστες που εισέρχονται σε έναν σταθερό φαινότυπο G1-παύσης, τα γερασμένα ενδοθηλιακά κύτταρα γίνονται πολυπλοειδή και υφίστανται σημαντικό προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Στα γερασμένα κύτταρα και των δύο κυτταρικών τύπων, διαπιστώθηκε παρόμοια συσσώρευση των G1 κυκλινών και των cdkis p16, p21 και p27. Τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι μηχανισμοί που οδηγούν στη διακοπή G1 είναι πιθανότατα κοινοί μεταξύ ινοβλαστών και ενδοθηλιακών κυττάρων-ωστόσο, υπάρχουν σαφώς βαθιές, ειδικές για κάθε κυτταρικό τύπο διαφορές στο πρόγραμμα γήρανσης όσον αφορά τη ρύθμιση της πολυειδίας και της απόπτωσης. Είναι ενδιαφέρον ότι περίπου το 5% των κυττάρων στον πληθυσμό των γερασμένων HUVEC βάφονται θετικά για την κυκλίνη A σε μια δεδομένη χρονική στιγμή. Αποδείχθηκε ότι η έκφραση του γονιδίου της κυκλίνης A εξαρτάται αυστηρά από την ενεργοποίηση της κυκλινεξαρτώμενης κινάσης 2 (cdk2), γεγονός που υποδηλώνει ότι η cdk2 παραμένει ενεργή σε έναν υποπληθυσμό των γερασμένων HUVEC. Η απορρύθμιση της δραστηριότητας της cdk εμπλέκεται τόσο στην επαγωγή της απόπτωσης όσο και στον πολυπλοϊσμό. Ως εκ τούτου, η αποτυχία των καλλιιεργειών γερασμένων HUVEC να υπορυθμίσουν πλήρως τις cdk μπορεί να εξηγήσει τόσο την επιρρέπεια στην απόπτωση όσο και την εμφάνιση πολυπλοειδών κυττάρων. Σε ένα μοντέλο που απορρέει από αυτά τα ευρήματα, το χαμηλό ποσοστό των κυττάρων της φάσης S σε έναν πληθυσμό γερασμένων HUVEC θα μπορούσε να οδηγήσει σε αποπτωτικά κύτταρα. Η σχετιζόμενη με την ηλικία απόπτωση πιστεύεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο κατά τη γήρανση των ιστών και η *in vitro* γήρανση των HUVEC μπορεί να παρέχει ένα νέο μοντέλο για την σχετιζόμενη με την ηλικία απόπτωση που θα μπορούσε να είναι χρήσιμο για τη μελέτη του ρόλου της ενδογενούς και εξωγενούς γήρανσης σε ορισμένες αγγειακές παθολογίες, π.χ. την αρτηριοσκλήρυνση, η οποία χαρακτηρίζεται από υπερβολική απόπτωση (Duan et al., 2020).

Παρόλο που απομένουν πολλά να μάθουμε για τη μεταγωγή του αποπτωτικού σήματος και την εκτέλεση της απόπτωσης, οι τρέχουσες γνώσεις μπορούν να

συννοπιστούν εν συντομία ως εξής. Η απόπτωση που πυροδοτείται από υποδοχείς κυτταρικού θανάτου (π.χ. το σύστημα συνδέσμων fas/Fas) οδηγεί στην ενεργοποίηση μιας κατηγορίας πρωτεασών, που αναφέρονται ως κασπάσες, ιδίως των κασπασών 8 και 10, οι οποίες ενεργοποιούν τις κασπάσες-ενεργοποιητές (π.χ. τις κασπάσες 3, 6 ή 7). Οι κασπάσες-εφέτες στη συνέχεια διασπούν βασικά υποστρώματα και προκαλούν έτσι τον πυρηνικό κατακερματισμό. Σε ένα εναλλακτικό μονοπάτι, η μιτοχονδριακή λειτουργία μεταβάλλεται μέσω μιας ποικιλίας σημάτων, οδηγώντας τελικά στο άνοιγμα του πόρου μετάβασης διαπερατότητας των μιτοχονδρίων (PTP). Το άνοιγμα του PTP ρυθμίζεται, μεταξύ άλλων, από μέλη της οικογένειας γονιδίων Bcl-2. Μόλις ανοίξει ο PTP, απελευθερώνονται διαλυτοί παράγοντες από τη μιτοχονδριακή μήτρα που πυροδοτούν, με τον ένα ή τον άλλο τρόπο, μια αποπτωτική απόκριση. Οι παράγοντες αυτοί περιλαμβάνουν το κυτόχρωμα C το οποίο, σε συνδυασμό με την κυτταρική πρωτεΐνη Araf-1, οδηγεί στην ενεργοποίηση της κασπάσης 9. Η κασπάση 9 με τη σειρά της ενεργοποιεί τις κασπάσες-εκτελεστές και έτσι οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο. Από την άλλη πλευρά, πρόσθετοι παράγοντες απελευθερώνονται κατά το άνοιγμα του PTP. Υπάρχουν όλο και περισσότερες ενδείξεις ότι οι μιτοχονδριακοί επιδραστικοί παράγοντες θανάτου δεν ενεργοποιούν απαραίτητα τις κασπάσες και δεν έχουν χαρακτηριστεί όλοι αυτοί οι παράγοντες. Πρόσφατα, ο παράγοντας που επάγει την απόπτωση (AIF) και η ενδονουκλεάση G αποδείχθηκε ότι λειτουργούν ως αποπτωτικοί επιδραστικοί παράγοντες που απελευθερώνονται από τα μιτοχόνδρια και προκαλούν κυτταρικό θάνατο ανεξάρτητο από την κασπάση (Shojaie et al., 2020).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο ενεργός ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος είναι απαραίτητος για τη διατήρηση της ομοιόστασης στους πολυκύτταρους οργανισμούς καθώς και για την επιλεκτική εξάλειψη των δυνητικά επιβλαβών ή μολυσμένων κυττάρων. Κατά συνέπεια, η απορρύθμιση των σηματοδοτικών μονοπατιών που ενεργοποιούν τον κυτταρικό θάνατο μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη καταστροφικών ασθενειών όπως ο καρκίνος και η αυτοανοσία (πολύ λίγος κυτταρικός θάνατος) καθώς και εκφυλιστικών ασθενειών (πολύς κυτταρικός θάνατος). Επομένως, η ύπαρξη αυστηρά ελεγχόμενων και αποτελεσματικών μέσων για την πρόκληση κυτταρικού θανάτου μπορεί να ερμηνευθεί ως λογική συνέπεια της εξέλιξης των πολυκύτταρων οργανισμών. Ωστόσο, η αναγκαιότητα τόσο πολλών διαφορετικών μονοπατιών σηματοδότησης θανάτου μπορεί να φαίνεται αντιφατική. Συνολικά, η επαγωγή του κυτταρικού θανάτου θα μπορούσε να θεωρηθεί ως μια απλή σηματοδοτική διαδικασία με πολλαπλές εισόδους/ερεθίσματα και ένα αποτέλεσμα: τον θάνατο του κυττάρου. Ωστόσο, ο τρόπος με τον οποίο ένα κύτταρο πεθαίνει έχει σημαντικές συνέπειες για τα γειτονικά κύτταρα και μερικές φορές για ολόκληρο τον οργανισμό. Για παράδειγμα, τα αποπτωτικά και τα νεκρωτικά κύτταρα εμφανίζουν αποκλίνουσες φλεγμονώδεις ιδιότητες και προκαλούν διαφορετικές ανοσολογικές αποκρίσεις (Sazonova et al., 2021).

Επιπλέον, συγκεκριμένα προγράμματα θανάτου περιλαμβάνουν την απελευθέρωση πολλαπλασιαστικών σημάτων που προκαλούν αντισταθμιστικό πολλαπλασιασμό στους περιβάλλοντες ιστούς. Τα σήματα αυτά μπορεί να διαφέρουν από τον ένα τύπο κυτταρικού θανάτου στον άλλο. Τέλος, τα μονοπάτια σηματοδότησης του θανάτου είναι σαφώς διασυνδεδεμένα. Για παράδειγμα, ο αυτοφαγικός κυτταρικός θάνατος συχνά ενισχύεται από την ενεργοποίηση της κασπάσης, ενώ η RIP-εξαρτώμενη νέκρωση ανταγωνίζεται από μια δραστηριότητα που εξαρτάται από την κασπάση. Η διασταύρωση μεταξύ αυτών των μονοπατιών παρέχει ενδεχομένως πολυάριθμους εφεδρικούς μηχανισμούς για τα προγράμματα κυτταρικού θανάτου και θα μπορούσε να εξηγήσει γιατί η αναστολή ενός μόνο προγράμματος έχει συχνά μικρές συνέπειες για τον οργανισμό. Η καλύτερη κατανόηση των επιπτώσεων κάθε τύπου κυτταρικού θανάτου στους περιβάλλοντες ιστούς και της αλληλεπίδρασης μεταξύ

αυτών των προγραμμάτων κυτταρικού θανάτου θα μπορούσε να βοηθήσει στην απάντηση ορισμένων από αυτά τα ερωτήματα (Sazonova et al., 2021).

Αν και ο κυτταρικός θάνατος μπορεί να συμβεί ως αποτέλεσμα συντριπτικής βλάβης, οι περισσότεροι κυτταρικοί θάνατοι στα ζώα συμβαίνουν με ενεργό τρόπο, ως συνέπεια συγκεκριμένων σηματοδοτικών γεγονότων. Σε γενικές γραμμές, υπάρχουν τρεις τύποι κυτταρικού θανάτου, οι οποίοι ορίζονται σε μεγάλο βαθμό από την εμφάνιση του ετοιμοθάνατου κυττάρου: απόπτωση (γνωστή και ως κυτταρικός θάνατος τύπου I), αυτοφαγικός κυτταρικός θάνατος (τύπος II) και νέκρωση (τύπος III) (Shojaie et al., 2020)..

Η απόπτωση χαρακτηρίζεται από κυτταρική συρρίκνωση, αφαίμαξη της μεμβράνης και συμπύκνωση της χρωματίνης (πυκνότητα). Μπορεί να οριστεί περαιτέρω ως κυτταρικός θάνατος που συνοδεύεται από την ενεργοποίηση των πρωτεασών. Δύο κύριες σηματοδοτικές οδοί πυροδοτούν τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο: η μιτοχονδριακή (η ενδογενής) οδός και ο υποδοχέας θανάτου (η εξωγενής) οδός. Το τελευταίο περιλαμβάνει μια κλασική αλληλεπίδραση συνδέτη-κυττάρου-επιφάνειας-υποδοχέα. Για παράδειγμα, τα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα μπορούν να σκοτώσουν μολυσμένα ή μετασχηματισμένα κύτταρα εκφράζοντας συνδέτες για τους υποδοχείς θανάτου (DRs), ένα υποσύνολο της οικογένειας των υποδοχέων του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF), TNFR. Αυτοί οι συνδέτες επάγουν τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο των στοχευόμενων κυττάρων εφόσον εκφράζουν τέτοιους DRs. Ο επαγόμενος από DR κυτταρικός θάνατος γενικά είναι κρίσιμος για τη λειτουργία και την ομοιοστάση του ανοσοποιητικού συστήματος. Αντίθετα, η μιτοχονδριακή αποπτωτική οδός συνήθως ξεκινά με κυτταρο-αυτόνομο τρόπο. Οι περισσότερες κυτταρικές καταπονήσεις, όπως η βλάβη του DNA (που προκαλείται από γονοτοξικούς παράγοντες ή ελαττώματα στην επιδιόρθωση του DNA) ή το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου (ER) (που προκαλείται από τη συσσώρευση μη αναδιπλωμένων πρωτεϊνών), ενεργοποιούν ενεργά την απόπτωση όταν τα κύτταρα υφίστανται βλάβη πέραν της επιδιόρθωσης (Shojaie et al., 2020).

Αντίθετα, η έλλειψη ενός σήματος, όπως αυτά που ενεργοποιούνται από αυξητικούς παράγοντες (π.χ. κυτταροκίνες και νευροτροφικοί παράγοντες), μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο. Αυτός ο μηχανισμός είναι κρίσιμος για την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος στα σπονδυλωτά και υπολογίζεται ότι οι μισοί από τους

νευρώνες που δημιουργούνται πεθαίνουν κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας. Αυτός ο κυτταρικός θάνατος οφείλεται, εν μέρει, στην αποτυχία ορισμένων πρόδρομων νευρώνων να μεταναστεύσουν σωστά ή να νευρώσουν τους στόχους τους και στη συνακόλουθη έλλειψη διέγερσης από νευροτροφικούς παράγοντες. Ομοίως, κατά τη διάρκεια μιας ανοσολογικής απόκρισης, η στέρηση κυτταροκινών (μαζί με την οδό DR) είναι υπεύθυνη για την οξεία συρρίκνωση του πληθυσμού των λεμφοκυττάρων μετά την απομάκρυνση του παθογόνου. Ένα άλλο παράδειγμα κυτταρικού θανάτου που προκαλείται από την "απώλεια σήματος" είναι η ειδική μορφή απόπτωσης που ονομάζεται ανοίκηση, η οποία συμβαίνει όταν επιθηλιακά ή ενδοθηλιακά κύτταρα αποκολλώνται από την εξωκυττάρια μήτρα (ECM). Σε αυτό το σενάριο, οι μη ενεργοποιημένοι υποδοχείς της ECM της οικογένειας των ιντεγκρινών παύουν να επάγουν μονοπάτια σηματοδότησης υπέρ της επιβίωσης, οδηγώντας τελικά σε απόπτωση. Αυτός ο μηχανισμός αποτρέπει τα κύτταρα που αποκολλώνται από την αρχική τους θέση να αποικίσουν αλλού (χαρακτηριστικό των μεταστατικών καρκινικών κυττάρων). Τέλος, η απόπτωση μπορεί να επάγεται από ογκογονίδια (π.χ. Myc) ως μηχανισμός προστασίας από την ανάπτυξη καρκίνου. Η διαδικασία αυτή ελέγχεται εν μέρει από ένα εξαρτώμενο από την p53 αποπτωτικό μονοπάτι, το οποίο ενεργοποιείται σε απόκριση σε ανώμαλα μιτογόνα σήματα που προκύπτουν από υπερέκφραση ή μετάλλαξη ογκογονιδίων. Κατά συνέπεια, η αποφυγή του αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου αποτελεί συχνά προϋπόθεση για τη διατήρηση του μετασχηματισμού των ογκογονιδίων (Shojaie et al., 2020).

Στην παρούσα φάση, τρεις διαφορετικές οδοί κυτταρικού καταβολισμού μπορούν να οριστούν σύμφωνα με μορφολογικά κριτήρια, δηλαδή η απόπτωση (η οποία είναι μια μορφή κυτταρικού θανάτου), η αυτοφαγία (η οποία προκαλεί την καταστροφή μέρους του κυτταροπλάσματος, αλλά κυρίως αποφεύγει τον κυτταρικό θάνατο) και η νέκρωση (η οποία είναι μια άλλη μορφή κυτταρικού θανάτου). Αν και χρησιμοποιήθηκε συχνά στο παρελθόν, η χρήση των λατινικών αριθμών (δηλ. κυτταρικός θάνατος τύπου I, τύπου II και τύπου III, αντίστοιχα) για την ένδειξη αυτών των καταβολικών διαδικασιών θα πρέπει να εγκαταλειφθεί. Επιπλέον, μπορούν να διατυπωθούν διάφορες κριτικές κατά της ξεκάθαρης διάκρισης διαφορετικών κυτταρικών τύπων στην τριάδα της απόπτωσης, του αυτοφαγικού κυτταρικού θανάτου και της νέκρωσης (Horsefield et al., 2019).

Πρώτον, αν και το λεξιλόγιο αυτό εισήχθη αρχικά με βάση παρατηρήσεις σε αναπτυσσόμενα ζώα, γρήγορα υιοθετήθηκε για να περιγράψει τα αποτελέσματα των *in vitro* μελετών που πραγματοποιήθηκαν σε αθάνατες κυτταρικές σειρές, οι οποίες αντικατοπτρίζουν πολύ ανεπαρκώς τη φυσιολογία του κυτταρικού θανάτου *in vivo*. Στους ιστούς, πράγματι, τα κύτταρα που πεθαίνουν συνήθως απορροφώνται πολύ πριν γίνουν αντιληπτά σημάδια προχωρημένης απόπτωσης ή νέκρωσης. Συνεπώς, μπορεί να είναι αποδεκτή - εφόσον αποδειχθεί η μη αναστρεψιμότητα αυτών των φαινομένων - η αξιολόγηση της ενεργοποίησης της κασπάσης ή/και του κατακερματισμού του DNA για τη διάγνωση του αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου *in vivo* (Horsefield et al., 2019).

Δεύτερον, υπάρχουν πολυάριθμα παραδείγματα στα οποία ο κυτταρικός θάνατος εμφανίζει μικτά χαρακτηριστικά, για παράδειγμα με ενδείξεις τόσο απόπτωσης όσο και νέκρωσης, γεγονός που οδήγησε στην εισαγωγή όρων όπως "νεκροαπόπτωση" και "απόνεκρωση" (η χρήση των οποίων αποθαρρύνεται από το NCCD προς αποφυγή περαιτέρω σύγχυσης). Παρομοίως, στον σιελογόνο αδένα του *D. melanogaster* που εξελίσσεται, η αυτοφαγική κενοποίηση συγχρονίζεται με σημάδια απόπτωσης και τα αποτελέσματα γενετικών μελετών δείχνουν ότι οι κασπάσες και η αυτοφαγία δρουν με προσθετικό τρόπο για να εξασφαλίσουν τον κυτταρικό θάνατο σε αυτό το περιβάλλον. Συνολικά, τα δεδομένα αυτά συνηγορούν κατά της σαφούς και απόλυτης διάκρισης μεταξύ των διαφόρων μορφών κυτταρικού θανάτου με βάση μορφολογικά κριτήρια (Horsefield et al., 2019).

Τρίτον (και σημαντικότερο), θα ήταν επιθυμητό να αντικατασταθούν οι μορφολογικές πτυχές με βιοχημικά/λειτουργικά κριτήρια για την ταξινόμηση των τρόπων κυτταρικού θανάτου. Δυστυχώς, δεν υπάρχει σαφής ισοδυναμία μεταξύ μορφολογίας και βιοχημείας, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι αρχαίοι μορφολογικοί όροι είναι καταδικασμένοι να εξαφανιστούν και να αντικατασταθούν από πραγματικά βιοχημικούς ορισμούς. Σε αυτό το πλαίσιο, οι γενετικές προσεγγίσεις "απώλειας λειτουργίας" και "κέρδους λειτουργίας" (π.χ. παρεμβολή RNA, μοντέλα knockout και συστήματα υπερέκφρασης με τη βοήθεια πλασμιδίων) αποτελούν ανεκτίμητα εργαλεία για τον χαρακτηρισμό των τρόπων κυτταρικού θανάτου με μεγαλύτερη ακρίβεια, αλλά μόνο εάν οι παρεμβάσεις αυτές μειώνουν/ενισχύουν πραγματικά τον ρυθμό θανάτου, αντί να αλλάζουν τη μορφολογική του εμφάνιση (όπως συμβαίνει συχνά). Οι σημερινές ταξινομήσεις του κυτταρικού θανάτου θυμίζουν την κατηγοριοποίηση των όγκων που επεξεργάστηκαν οι παθολόγοι κατά τον τελευταίο ενάμιση αιώνα. Καθώς οι παλιές

μορφολογικές κατηγοριοποιήσεις των όγκων υποστηρίζονται όλο και περισσότερο (και πιθανώς θα αντικατασταθούν) από τη μοριακή διάγνωση (η οποία επιτρέπει μια πιο εξελιγμένη διαστρωμάτωση των υποτύπων του καρκίνου με βάση μοριακά κριτήρια), ο σημερινός κατάλογος των τύπων κυτταρικού θανάτου προορίζεται να χάσει την αξία του σε σύγκριση με τις βιοχημικές/λειτουργικές εξετάσεις. Τελικά, τέτοιες προσπάθειες ταξινόμησης δικαιολογούνται μόνο όταν έχουν προγνωστικό ή/και προγνωστικό αντίκτυπο, επιτρέποντας την αντιστοίχιση κάθε μεμονωμένου καρκίνου με την κατάλληλη θεραπεία. Ομοίως, μια ονοματολογία κυτταρικού θανάτου θα θεωρηθεί χρήσιμη μόνο εάν προβλέπει τις δυνατότητες φαρμακολογικής/γενετικής τροποποίησης (επαγωγής ή αναστολής) του κυτταρικού θανάτου ή/και εάν προβλέπει τις συνέπειες του κυτταρικού θανάτου *in vivo*, όσον αφορά τη φλεγμονή και την αναγνώριση από το ανοσοποιητικό σύστημα (Horsefield et al., 2019).

Ο κυτταρικός θάνατος θεωρείται συχνά «εξαρτώμενος από την κασπάση» όταν καταστέλλεται από αναστολείς κασπάσης ευρέος φάσματος, όπως η N-βενζυλοξυκαρβονυλο-Val-Ala-Asp-φθορομεθυλοκετόνη (Z-VAD-fmk). Ως προειδοποίηση, ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι η Z-VAD-fmk δεν δρα σε όλες τις κασπάσες με την ίδια αποτελεσματικότητα και αναστέλλει επίσης τις καλπαΐνες και τις κατεψίνες, ιδίως σε υψηλές συγκεντρώσεις (>10 μ M). Επιπλέον, η Z-VAD-fmk έχει συσχετιστεί με διάφορες επιδράσεις εκτός στόχου που θα προέκυπταν από τη σύνδεση με κυστεΐνες σε πρωτεΐνες εκτός των πρωτεασών κυστεΐνης. Ως παράδειγμα, η Z-VAD-fmk έχει αποδειχθεί ότι παρεμβαίνει στην αλληλεπίδραση μεταξύ της μεταλοκάσης νουκλεοτιδίων αδενίνης και της κυκλοφυλίνης D, ευνοώντας έτσι τον νεκρωτικό κυτταρικό θάνατο. Για τους λόγους αυτούς, θα πρέπει να προτιμηθεί ο όρος "Z-VAD-fmk ανασταλτική" αντί του όρου "εξαρτώμενη από την κασπάση". Μια δεύτερη δυσκολία προκύπτει από το γεγονός ότι η αναστολή της κασπάσης συχνά αποτρέπει την εμφάνιση ορισμένων μορφολογικών σημείων απόπτωσης (όπως η συμπτύκνωση της χρωματίνης και ο κατακερματισμός του DNA), αλλά καθυστερεί μόνο τον κυτταρικό θάνατο. Σε πολλές περιπτώσεις, η αναστολή της κασπάσης προκαλεί απλώς μια μετατόπιση από μια μορφολογία απόπτωσης σε μια μορφολογία μικτού κυτταρικού θανάτου, ή ακόμη και σε ολοκληρωμένες εικόνες νέκρωσης ή αυτοφαγικού κυτταρικού θανάτου, οι οποίες, ωστόσο, μπορεί να εκδηλώσουν κάποια καθυστέρηση. Έτσι, ο "ανεξάρτητος από την κασπάση κυτταρικός θάνατος" μπορεί να συμβεί παρά την αποτελεσματική αναστολή των κασπασών και να εμφανίζει ορισμένα από τα

μορφολογικά σημάδια της απόπτωσης (όπως μια μερική συμπύκνωση της χρωματίνης), της αυτοφαγίας ή της νέκρωσης (Shojaie et al., 2020).

Πιο συγκεκριμένα, σε ότι αφορά τον καρκίνο, η συσχέτισή του με τον κυτταρικό θάνατο είναι πιο περίπλοκη από όσο αναμενόταν. Η άποψη ότι ο ενδογενής θάνατος δυνητικά επικίνδυνων κυττάρων αποτρέπει την ανάπτυξη όγκων εξακολουθεί να ισχύει. Όμως, αγνοεί το γεγονός ότι τα κύτταρα αλληλεπιδρούν με το περιβάλλον τους. Ο ρόλος της απόπτωσης στην ογκογένεση εξαρτάται από τον ιστό στον οποίο βρίσκεται το κύτταρο και την αλληλουχία των γεγονότων κατά τον μετασχηματισμό. Η ισορροπία μεταξύ πολλαπλασιασμού, γήρανσης και θανάτου, πιθανότατα, προσαρμόζεται κατά την εξέλιξη του όγκου. Πρόσφατα, έχει διαλευκανθεί η διαδικασία της έναρξης αιματολογικών κακοηθειών. Κατά τη διάρκεια περαιτέρω εξέλιξης του όγκου, τα καρκινικά κύτταρα, συχνά αποκρίνονται στο αλλοιωμένο στάδιό τους με το να υφίστανται προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο και να παραμένουν σε μεγάλο βαθμό εξαρτημένα από ορισμένα σήματα επιβίωσης που δέχονται από το περιβάλλον τους. Εντός ενός αναπτυσσόμενου όγκου, η απόπτωση θα εξαλείψει τα κύτταρα που εμφανίζονται πιο ευαίσθητα σε αυτή. Έτσι, ο κυτταρικός θάνατος επιβάλλει πίεση επιλογής, ευνοώντας την κλωνική επέκταση επιθετικών υποκλώνων. Ως εκ τούτου, ακόμα και οι πλήρως εγκατεστημένοι όγκοι είναι σχεδόν σπάνια πλήρως ανθεκτικοί στην απόπτωση και ο θάνατος που επέρχεται από υποξία ή χημειοθεραπευτικά, αυξάνει την πολλαπλασιαστική πίεση, ανοίγοντας τον δρόμο για ανθεκτικούς στη θεραπεία ή υποτροπιάζοντες καρκίνους (Labi & Erlacher, 2015).

Υπό το φως αυτών των ευρημάτων, γίνεται προφανές ότι οι τυπικές αντικαρκινικές θεραπείες αντιμετωπίζουν ένα δίλημμα στοχεύοντας στην πρόκληση θανάτου καρκινικών κυττάρων. Χρειάζονται καλύτερες στρατηγικές θεραπείας για την αποφυγή περιττής ιστικής βλάβης και φλεγμονωδών αποκρίσεων σε ασθενείς με όγκο, καθώς και σε ασθενείς που παρουσιάζουν προκακοήθεις καταστάσεις, όπως ανεπάρκεια μυελού των οστών ή ιογενή ηπατίτιδα. Χρειάζεται επιπλέον έρευνα για να γίνει αντιληπτή η συμβολή της απόπτωσης στη διαμόρφωση των όγκων, σαν προϋπόθεση για να δημιουργηθεί μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα για την ογκογένεση και να επιτραπεί πιο αποτελεσματική θεραπευτική παρέμβαση (Labi & Erlacher, 2015).

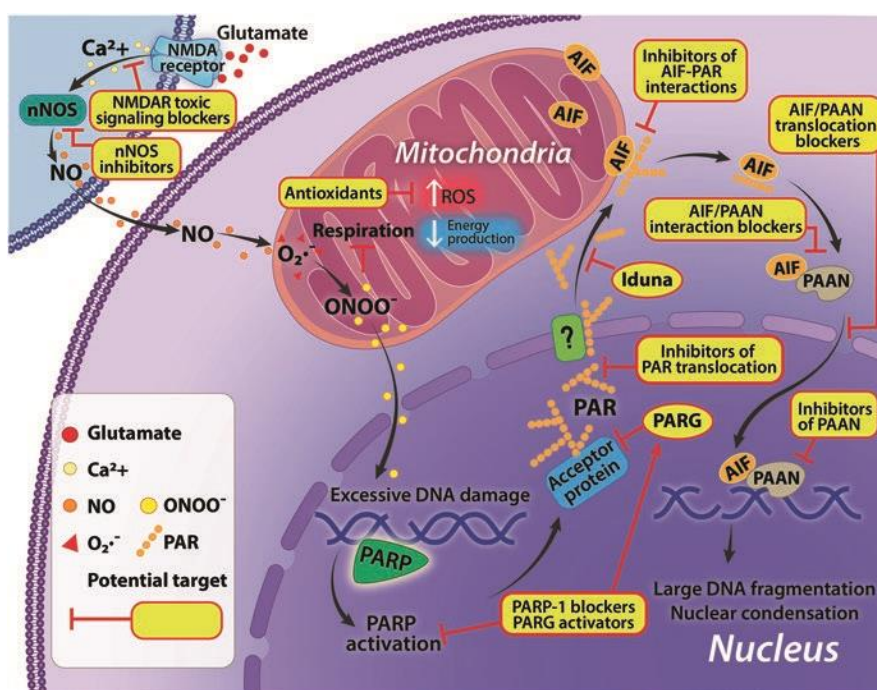
Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ο PCD διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της γήρανσης και ρυθμίζεται από ειδικά μοριακά μονοπάτια. Ωστόσο,

ορισμένες φορές, αυτή η διαδικασία είναι επιρρεπής σε διαταραχές. Η εσφαλμένη ρύθμιση του PCD κατά τη γήρανση πιστεύεται ότι οφείλεται στη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία. Στον άνθρωπο, η παρατηρούμενη συστηματική μείωση των δεικτών PCD κατά τη γήρανση είναι πιθανό να συνδέεται με την μείωση του ρυθμού ανανέωσης των κυττάρων που παρατηρείται στους ιστούς με υψηλή μιτωτικότητα, όπως το δέρμα και το αίμα. Αυτή η συνολική μείωση της συντονισμένης γέννησης των κυττάρων και του PCD, μπορεί, με τη σειρά της, να οφείλεται σε δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων και στη μείωση του μεταβολικού ρυθμού ηρεμίας που σχετίζεται με τη γήρανση. Ο μεταβολισμός των κυττάρων συνδέεται με τον μεταβολισμό του οργανισμού και κατά τη διάρκεια της γήρανσης η μεταβολική ικανότητα μπορεί να γίνει ανεπαρκής για να υποστηρίξει τον ισχυρό κύκλο εργασιών των ιστών με υψηλή μιτωτικότητα. Ταυτόχρονα, αποτυχίες στη μιτοχονδριακή συντήρηση, που σχετίζονται με τη γήρανση, όπως ο μειωμένος ρυθμός εναλλαγής των μιτοχονδρίων (μιτοφαγία), προδιαθέτουν τα μιτοχόνδρια να χάσουν το δυναμικό της μεμβράνης τους και τη διαπερατότητά της, γεγονότα που προάγουν τον PCD. Έτσι, αυξάνεται ο ρυθμός PCD σε ορισμένους κυτταρικούς τύπους, όπως ο μυς (Tower, 2015).

Η μειωμένη μιτοφαγία θα έχει ως αποτέλεσμα μιτοχόνδρια με μεγαλύτερη διάρκεια ζωής, άρα πιο επιρρεπή σε βλάβες. Το μιτοχονδριακό γονιδίωμα έχει υψηλό ρυθμό μεταλλακτικότητας και οι μιτοχονδριακές μεταλλάξεις εμπλέκονται όλο και περισσότερο στη δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων κατά τη γήρανση. Επειδή η μιτοφαγία είναι σημαντική για τον καθαρισμό του μεταλλαγμένου μιτοχονδριακού γονιδιώματος από το κύτταρο, η μείωσή της με την πάροδο της ηλικίας, μπορεί να εμπλέκεται στη συσσώρευση μεταλλαγμένων μιτοχονδριακών γονιδιωμάτων, τα οποία ευνοούν τη δυσλειτουργία του μιτοχονδρίου, συμπεριλαμβανομένου του δυσπροσαρμοστικού PCD. Τέλος, η μονογονεϊκή κληρονομικότητα του μιτοχονδριακού γονιδιώματος, μπορεί να δημιουργήσει γενετικές συγκρούσεις (σεξουαλική ανταγωνιστική πλειοτροπία), που προκαλούν τις μιτοχονδριακές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένου του PCD. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος να σχετίζεται με τη γήρανση μέσω της κακής ρύθμισης λόγω φύλου (Tower, 2015).

Στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες, βρέθηκε ότι σημαντικό ρόλο διαδραματίζει το είδος του κυτταρικού θανάτου που ονομάζεται παρθάνατος. Σχετίζεται με την εξωτοξικότητα, με οξείες νευρολογικές ασθένειες, για παράδειγμα, ισχαιμικό

εγκεφαλικό επεισόδιο και με νευροεκφυλιστικές διαταραχές, συμπεριλαμβανομένων των PD (Parkinson's Disease), AD (Alzheimer's Disease), HD (Huntington's Disease), ALS (Amyotrophic lateral sclerosis) και MS (Multiple sclerosis). Αν και ο ίδιος ο κυτταρικός θάνατος είναι το τελευταίο στάδιο του νευροεκφυλισμού, οι φαρμακολογικοί αναστολείς και οι γενετικές διαγραφές των μεσολαβητών, που συμβαίνουν κατά τη διάρκειά του, έχουν ευεργετική επίδραση σε κυτταρικά και ζωικά μοντέλα νευροεκφυλιστικών ασθενειών. Αυτό υποδεικνύει ότι η πρόληψη ή η μείωση απώλειας κυττάρων εξακολουθούν να είναι ελπιδοφόρες θεραπευτικές παρεμβάσεις, που πιθανώς θα μπορούσαν να επιβραδύνουν την πρόοδο της νόσου. Είναι απαραίτητη περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών σηματοδότησης του παρθανάτου και των ρόλων των μεσολαβητών του σε διαφορετικές νευρολογικές και νευροεκφυλιστικές διαταραχές. Στην παρακάτω εικόνα παρατίθενται ορισμένοι πιθανοί στόχοι φαρμάκων στις οδούς σηματοδότησης του παρθανάτου (Fan et al., 2017).



Εικόνα 6: Θεραπευτικοί στόχοι του παρθανάτου. Όταν εμπλέκεται η εξωτοξικότητα το ευεργετικό αποτέλεσμα των NMDAR αναστολέων της τοξικής σηματοδότησης (όπως τα πεπτίδια Tat που παρεμποδίζουν τη δέσμευση NR2B/PSD-95 και PSD-95/nNOS), ο αποκλειστής NMDAR (memantine) και οι εκλεκτικοί αναστολείς nNOS αποδείχθηκε σε πειραματικά μοντέλα και κλινικές

δοκιμές στην ισχαιμία και σε ορισμένες νευροεκφυλιστικές διαταραχές. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν επίσης να μειώσουν την παραγωγή των ROS πρωτεϊνών και έτσι να προστατεύσουν τα κύτταρα από τον παρθάνατο και άλλες μορφές θανάτου. Η νευροπροστατευτική δράση των αναστολέων PARP-1 έχει αναλυθεί. Άλλοι πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι καθοδικά της ενεργοποίησης του PARP-1 περιλαμβάνονται αλλά δεν περιορίζονται σε: ενεργοποίηση του ενδογενούς αναστολέα του PARP-1 PARG και Iduna (όπως προετοιμασία), πρόληψη της μετατόπισης του σήματος θανάτου (PAR) από τον πυρήνα στα μιτοχόνδρια, πρόληψη της απελευθέρωσης και μετατόπισης του AIF στον πυρήνα μαζί με τον συνεργάτη του PAAN, καθώς των κρίσιμων αλληλεπιδράσεων των μεσολαβητών και αναστολή της λειτουργίας νοκλέάσης του PAAN. Τα επισημασμένα πλαίσια με τις κόκκινες γραμμές είναι οι θεραπευτικοί στόχοι που προτείνονται για νευρολογικές και νευροεκφυλιστικές διαταραχές που περιλαμβάνουν τον παρθάνατο.

Επίσης, θα ήταν σημαντικό να κατανοήσουμε τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του παρθανάτου και άλλων σημαντικών μορφών κυτταρικού θανάτου στις νευροεκφυλιστικές νόσους. Για παράδειγμα, η PARP-1 μπορεί να διασπαστεί από ενεργοποιημένες κασπάσες, που διατηρούν την ενέργεια που χρειάζεται για την εκτέλεση των κυττάρων από αποπτωτικές μηχανές. Ενώ, αντίθετα, κύτταρα με υπερνεργοποιημένη PARP-1 υποφέρουν από έλλειψη NAD^+ και ATP υφίστανται είτε νεκρόπτωση είτε παρθάνατο που ρυθμίζεται από πολυμερισμένη PAR και πιθανώς συνοδεύεται από αυτοφαγία. Οι παράγοντες κυτταρικού θανάτου PAR, AIF, ενεργοποιημένα B κύτταρα και η πρωτεΐνη p53 εμπλέκονται σε διάφορα προγράμματα κυτταρικού θανάτου και η κατανόηση των ρόλων τους και των αλληλεπιδράσεων τους σε αυτές τις συνθήκες, θα συμβάλλει στην ανάπτυξη θεραπειών και βιοδεικτών για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Fan et al., 2017).

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahmed, A., & Tait, S. W. G. (n.d.). *Targeting immunogenic cell death in cancer*. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12851>
- Bedoui, S., Herold, M. J., & Strasser, A. (2020). Emerging connectivity of programmed cell death pathways and its physiological implications. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2020 21:11, 21(11), 678–695. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0270-8>
- Birsen, R., & Bouscary, D. (2022). Haematologica 2022 Volume 107(2):403-416. *Haematologica* |, 107(2), 403. <https://doi.org/10.3324/haematol.2020.259531>
- Bock, F. J., & Tait, S. W. G. (2019). Mitochondria as multifaceted regulators of cell death. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2019 21:2, 21(2), 85–100. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0173-8>
- Brantley, S. J., Cotten, S. W., Lamson, D. R., Smith, G. R., Liu, R., & Williams, K. P. (n.d.). *Discovery of small molecule inhibitors for the C. elegans caspase CED-3 by high-throughput screening*. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.07.100>
- Broz, P., Pelegrín, P., & Shao, F. (2019). The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation. *Nature Reviews Immunology* 2019 20:3, 20(3), 143–157. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0228-2>
- Carneiro, L. A., Gioia, M. Di, Amarante-Mendes, G. P., Br, G., Weinlich, R., Bortoluci, K. R., Adjemian, S., Branco, L. M., & Zanetti, L. C. (2018). Pattern Recognition Receptors and the Host Cell Death Molecular Machinery. *Frontiers in Immunology* | *Www.Frontiersin.Org*, 9, 2379. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02379>
- Duan, J., Cui, L., Zhao, X., Bai, H., Cai, S., Wang, G., Zhao, Z., Zhao, J., Chen, S., Song, J., Qi, C., Wang, Q., Huang, M., Zhang, Y., Huang, D., Bai, Y., Sun, F., Lee, J. J., Wang, J., & Wang, Z. (2020). Use of Immunotherapy With Programmed Cell Death 1 vs Programmed Cell Death Ligand 1 Inhibitors in Patients With Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncology*, 6(3), 375. <https://doi.org/10.1001/JAMAONCOL.2019.5367>
- Fan, J., Dawson, T. M., & Dawson, V. L. (2017). Cell Death Mechanisms of Neurodegeneration. *Advances in Neurobiology*, 15, 403–425. https://doi.org/10.1007/978-3-319-57193-5_16
- Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., Alnemri, E. S., Altucci, L., Amelio, I., Andrews, D. W., Annicchiarico-Petruzzelli, M., Antonov, A. V., Arama, E., Baehrecke, E. H., Barlev, N. A., Bazan, N. G., Bernassola, F., Bertrand, M. J. M., Bianchi, K., ... Kroemer, G. (2018). Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. In *Cell Death and Differentiation* (Vol. 25, Issue 3, pp. 486–541). <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>
- Horsefield, S., Burdett, H., Zhang, X., Manik, M. K., Shi, Y., Chen, J., Qi, T., Gilley,

- J., Lai, J. S., Rank, M. X., Casey, L. W., Gu, W., Ericsson, D. J., Foley, G., Hughes, R. O., Bosanac, T., Von Itzstein, M., Rathjen, J. P., Nanson, J. D., ... Kobe, B. (2019). NAD⁺ cleavage activity by animal and plant TIR domains in cell death pathways. *Science*, 365(6455), 793–799. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAX1911>
- Huang, J., Liu, D., Wang, Y., Liu, L., Li, J., Yuan, J., Jiang, Z., Jiang, Z., Wendy Hsiao, W., Liu, H., Khan, I., Xie, Y., Wu, J., Xie, Y., Zhang, Y., Fu, Y., Liao, J., Wang, W., Lai, H., ... Hong Wei, P. (2022). Gut microbiota Ginseng polysaccharides alter the gut microbiota and kynurenine/tryptophan ratio, potentiating the antitumour effect of antiprogrammed cell death 1/ programmed cell death ligand 1 (anti-PD-1/PD-L1) immunotherapy. *Gut*, 71, 734–745. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-321031>
- Johnson, A. G., Wein, T., Mayer, M. L., Duncan-Lowey, B., Yirmiya, E., Oppenheimer-Shaanan, Y., Amitai, G., Sorek, R., & Kranzusch, P. J. (2022). Bacterial gasdermins reveal an ancient mechanism of cell death. *Science*, 375(6577), 221–225. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABJ8432>
- Jorgensen, I., Rayamajhi, M., & Miao, E. A. (n.d.). *Programmed cell death as a defence against infection GSDMD forms a pore in membranes*. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.147>
- Kajarabille, N., & Latunde-Dada, G. O. (2019). *Molecular Sciences Programmed Cell-Death by Ferroptosis: Antioxidants as Mitigators*. <https://doi.org/10.3390/ijms20194968>
- Karki R, Sharma BR, Tuladhar S, Williams EP, Zalduondo L, Samir P, Zheng M, Sundaram B, Banoth B, Malireddi RKS, Schreiner P, Neale G, Vogel P, Webby R, Jonsson CB, Kanneganti TD. Synergism of TNF- α and IFN- γ Triggers Inflammatory Cell Death, Tissue Damag, and M. in S.-C.-2 I. and C. S. S. C. 2021 J. 7;184(1):149-168. e17. doi: 10. 1016/j. cell. 2020. 11. 025. E. 2020 N. 19. P. 33278357; P. P. (n.d.). No Title.
- Kesavardhana, S., Subbarao Malireddi, R. K., & Kanneganti, T.-D. (n.d.). *Caspases in Cell Death, Inflammation, and Gasdermin-Induced Pyroptosis*. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-073119-095439>
- Kist, M., & Vucic, D. (n.d.). *Cell death pathways: intricate connections and disease implications*. <https://doi.org/10.15252/emboj.2020106700>
- Labi, V., & Erlacher, M. (2015). How cell death shapes cancer. *Cell Death and Disease*, 6. <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.20>
- Lei, G., Zhang, Y., Koppula, P., Liu, X., Zhang, J., Lin, S. H., Ajani, J. A., Xiao, Q., Liao, Z., Wang, H., & Gan, B. (n.d.). *The role of ferroptosis in ionizing radiation-induced cell death and tumor suppression*. <https://doi.org/10.1038/s41422-019-0263-3>
- Merino, M. M., Seum, C., Dubois, M., & Gonzalez-Gaitan, M. (2022). A role for Flower and cell death in controlling morphogen gradient scaling. *Nature Cell Biology* 2022 24:4, 24(4), 424–433. <https://doi.org/10.1038/s41556-022-00858-3>

- Mishra, A. P., Salehi, B., Sharifi-Rad, M., Pezzani, R., Kobarfard, F., Sharifi-Rad, J., & Nigam, M. (2018). Programmed Cell Death, from a Cancer Perspective: An Overview. *Molecular Diagnosis and Therapy*, 22(3), 281–295. <https://doi.org/10.1007/S40291-018-0329-9/METRICS>
- Miwa, S., Chini, E., & Von Zglinicki, T. (2022). Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging The Journal of Clinical Investigation. *J Clin Invest*, 132(13). <https://doi.org/10.1172/JCI158447>
- Rodriguez-Ruiz, M. E., Vitale, I., Harrington, K. J., Melero, I., & Galluzzi, L. (2019). Immunological impact of cell death signaling driven by radiation on the tumor microenvironment. *Nature Immunology* 2019 21:2, 21(2), 120–134. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0561-4>
- Roger, L., Tomas, F., Gire, V., Galderisi, U., & Bernardo, G. Di. (2021). *Molecular Sciences Mechanisms and Regulation of Cellular Senescence*. <https://doi.org/10.3390/ijms222313173>
- Sazonova, E. V, Petrichuk, S. V, Kopeina, G. S., & Zhivotovsky, B. (2021). High-fat diet impairs ferroptosis and promotes cancer invasiveness via downregulating tumor suppressor ACSL4 in lung adenocarcinoma. *Biology Direct*, 16, 25. <https://doi.org/10.1186/s13062-021-00313-7>
- Sen, S., Won, M., Levine, M. S., Noh, Y., Sedgwick, A. C., Kim, J. S., Sessler, J. L., & Arambula, J. F. (n.d.). Metal-based anticancer agents as immunogenic cell death inducers: the past, present, and future HHS Public Access. *Chem Soc Rev*, 51(4), 1212–1233. <https://doi.org/10.1039/d1cs00417d>
- Shojaie, L., Iorga, A., & Dara, L. (2020). Cell Death in Liver Diseases: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), 1–47. <https://doi.org/10.3390/IJMS21249682>
- Sia, J., Szmyd, R., Hau, E., & Gee, H. E. (2020). Molecular Mechanisms of Radiation-Induced Cancer Cell Death: A Primer. *Front. Cell Dev. Biol*, 8, 41. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00041>
- Tower, J. (2015). Programmed cell death in aging. *Ageing Research Reviews*, 23(Pt A), 90. <https://doi.org/10.1016/J.ARR.2015.04.002>
- Tsvetkov, P., Coy, S., Petrova, B., Dreishpoon, M., Verma, A., Abdusamad, M., Rossen, J., Joesch-Cohen, L., Humeidi, R., Spangler, R. D., Eaton, J. K., Frenkel, E., Kocak, M., Corsello, S. M., Lutsenko, S., Kanarek, N., Santagata, S., & Golub, T. R. (2022). Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins HHS Public Access. *Science*, 375(6586), 1254–1261. <https://doi.org/10.1126/science.abf0529>
- Tuo, Q. zhang, Zhang, S. ting, & Lei, P. (2022). Mechanisms of neuronal cell death in ischemic stroke and their therapeutic implications. *Medicinal Research Reviews*, 42(1), 259–305. <https://doi.org/10.1002/MED.21817>
- Wu, X., Li, L., He, N., Zhao, G., Jiang, F., & Shen, J. (2018). Study on the tool wear and its effect of PCD tool in micro milling of tungsten carbide. *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials*, 77, 61–67.

<https://doi.org/10.1016/J.IJRMHM.2018.07.010>