

Apoptoza – programowana śmierć komórki

Katedra Anatomii Patologicznej, Fizjopatologii i Weterynarii Sądowej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR,
ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Proces uszkodzenia komórki zależy od wielu czynników patogennych jak również od cech morfologiczno-czynnościowych samej komórki. Jednocześnie należy podkreślić, że mechanizm uszkodzenia komórki jest często bardzo trudny do ustalenia, chociaż najczęściej ma się do czynienia z naruszeniem integralności jednego z czterech systemów wewnątrzkomórkowych, tj. systemu oddychania tlenowego, systemu funkcjonowania błon komórkowych, systemu enzymów i białek strukturalnych oraz systemu naprawy aparatu genetycznego (8). Ścisłe, wzajemne powiązania wymienionych systemów sprawia, że uszkodzenie jednego z procesów wpływa na inny, powodując lawinowy łańcuch zaburzeń wtórnych. Zmiany molekularne w komórkach uszkodzonych zachodzą zwykle bardzo szybko, stąd morfologicznie ich objawy mogą wcale nie wystąpić lub ze znacznym opóźnieniem. Często brak jest również konkretnych cech biochemicznych i morfologicznych w tym procesie, co powoduje, że moment przejścia od życia do śmierci komórki jest jak dotąd niemożliwy do precyzyjnego ustalenia.

Rozpatrując ten proces na bazie energetycznej komórki należy stwierdzić, że wzrost wartości entropii powyżej granic dopuszczalnych prowadzi do zmian nieodwracalnych i śmierci komórki. Jest to moment, w którym zmiany w komórce osiągają tzw. punkt bez powrotu, dając podobny obraz morfologiczny, bez względu na przyczynę, a sam proces przez długie lata określano mianem martwicy (*necrosis*). Okazało się jednak, że proces destrukcji komórki jest dwutorowy i obok klasycznej martwicy istnieje niezależnie drugi proces, czyli apoptoza (*apoptosis*). Według źródłosłowa greckiego *apoptosis* oznacza opadanie liści z drzew, względnie płatków z kwiatów.

1. Apoptoza a martwica komórki

Apoptoza jest kontrolowanym, programowanym procesem usuwania pojedynczych komórek w ich populacji, a zatem ich śmierci, spowodowanej działaniem czynników wewnątrzkomórkowych (8). Apoptoza jest aktywnym, genetycznie zaprogramowanym procesem, który jest zainicjowany względnie zahamowany przez różne czynniki zewnętrzne, np. wolne rodniki, zmiany stężenia hormonów ste-

roidowych czy poziomu wapnia. Nosi także miano samobójstwa komórki (25). Martwica natomiast jest spowodowaną śmiercią komórki przez czynniki zewnątrzkomórkowe i dotyczy wielu komórek, a nawet części narządu (15).

Apoptoza jest przeciwstawieniem proliferacji. Utrzymuje równowagę tkankową przeciwdziałając hiperplazji i neoplazji. Jest też selekcjonerem komórek o nieodpowiednich receptorach w hemopoizie i układzie immunologicznym (17). Proces określa się często mianem śmierci fizjologicznej, w odróżnieniu od martwicy, czyli śmierci patologicznej komórki (24). W martwicy mamy do czynienia z obrzmieniem komórki, utratą ciągłości błony plazmatycznej i przedostania się zawartości komórki do przestrzeni pozakomórkowej z następującą reakcją zapalno-naprawczą, zaburzeniami w krążeniu i aktywną fagocytozą przez komórki jednojądrzaste (8, 20). W proces martwicy komórki włączone są wszystkie organella, ale w różnym czasie, np. obraz jądra komórkowego początkowo nie jest zmieniony. W apoptozie natomiast zmiany rozpoczynają się w jądrze komórkowym, tzn. obkurcza się ono, chromatyna ulega zagęszczeniu oraz następuje fragmentacja i degradacja DNA do cząsteczek nukleosomowych, które w obrazie elektroforetycznym porównuje się do „drabinki” DNA (22, 36). Obkurczona błona plazmatyczna tworzy małe wypuklenia (blebbing) na jej powierzchni, a następnie powstają tzw. ciała apoptotyczne, czyli otoczone błoną komórkową twory, zawierające fragmenty jądra oraz nieuszkodzone organella komórkowe (14, 28). Ciała te są fagocytowane przez monocyty i makrofagi, czyli układ MPS (mononuclear phagocytes system), rozpoznające ginące komórki m.in. za pośrednictwem receptora vitronektyny (27). Apoptozie nie towarzyszy odczyn zapalny (23) – ryc. 1.

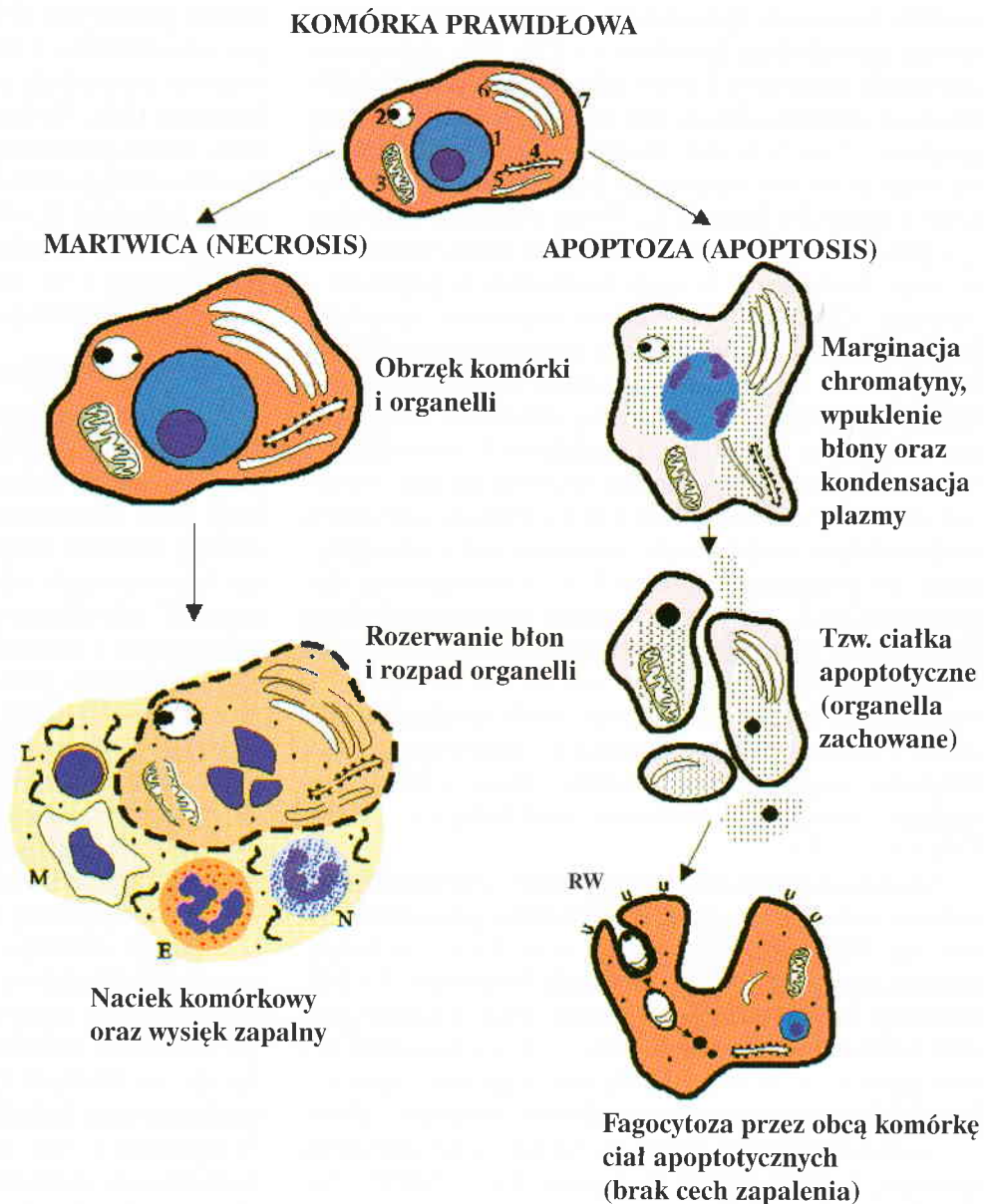
W apoptozie aktywna jest transkrypcja i translacja, a do wczesnych markerów tego procesu należą: endonukleaza błony okołojądrowej, swoista wczesna proteoliza polipeptydu pADPR (polimery polimeru ADP-rybozy), transglutaminazy oraz wtórne przekaźniki, np. C2 – ceramid z rozpadłej sfingomieliny (16, 20).

Niestety brak jest, jak wspomniano, bezwzględnych kryteriów morfologicznych czy biochemicz-

nych, które by upoważniały do rozpoznania śmierci komórki. Dotyczy to zarówno naglej, jak i przeciągającej się w czasie śmierci. W sensie biochemicznym śmierć komórki może zależeć od uszkodzenia jakiegoś układu enzymatycznego z następową reakcją łańcuchową, prowadzącą do dezorganizacji wewnątrzkomórkowej.

Najszybciej, bo już po ok. 10 minutach od zadziałania bodźca patogenego, uszkodzeniu ostremu ulegają mitochondria, po godzinie poszerzają się kanały strefy Golgiego i tworzą się wodniczki, a następnie po 2-3 godz. zmiany obejmują siateczkę śródplazmatyczną szorstką i jądro komórkowe (8). Karioplazma ulega plamistym rozjaśnieniom a chromatyna zbryla się i przemieszcza coraz bardziej ku otoczce jądrowej (*marginatio*). Następnie dochodzi do rozpadu jądra komórkowego (*kariorexesis*), rozplynięcia (*kariolysis*) lub zagęszczenia chromatyny (*kariopycnosis*). Szybko też narasta porażenie funkcji błon obrzeżających lizosomy i przenikanie hydrolaz do cytoplazmy (15). Zasoby energetyczne komórki wyczerpują się, ustaje regulacja transportu wodno-elektrolitowego przez błonę plazmatyczną i komórka pęcznieje a następnie ulega lizie. Czasem hydrolazy lizosomów nie biorą bezpośrednio udziału w mechanizmie martwicy, a istotą procesu jest szybko postępująca denaturacja białek, zarówno hialoplazmy jak i depot białkowego w kanałach siateczki śródplazmatycznej i karioplazmy (19). Tworzą się liczne sekwestry (martwaki) porozielane wyraźnie zagęszczoną hialoplazmą, zawierające organella komórkowe, fragmenty karioplazmy oraz struktury mielopodobne, tj. uległe dezorganizacji błony cytoplazmatyczne bogate w lipidy. Tak rozczłonkowane na wiele fragmentów komórki mogą być wydalone na zewnątrz, np. z nabłonka jelit do ich światła lub są fagocytowane (39).

Rozfragmentowanie komórki i dalsza ich eliminacja ma miejsce w czasie różnicowania się tkanek



Ryc. 1. Różnica między martwicą a apoptozą komórki

Objaśnienia: 1 – jądro komórkowe, 2 – lizosom, 3 – mitochondrium, 4 – siateczka śródplazmatyczna szorstka, 5 – siateczka śródplazmatyczna gładka, 6 – aparat Golgiego, 7 – błona komórkowa, M – makrofag, N – neutrofil, E – eozynofil, L – limfocyt, ~ – włóknik, RW – m.in. receptor witronektyny.

w okresie embrionalnym (onto- i organogeneza), a w ustroju dojrzałym w procesie apoptozy (10). Stąd zmiany morfologiczne typowe dla apoptozy spotyka się zarówno w tkankach prawidłowych, w czasie ich rozwoju i metamorfozy, jak również w tkankach ulegających zanikowi i nowotworzeniu. Nasilenie tego zjawiska następuje po napromieniowaniu, w hipertermii i po stosowaniu cytostatyków, natomiast zahamowanie – po terapii kortykotropiną (3). Apoptoza towarzyszy także dojrzewaniu komórek, kiedy to dochodzi do stopniowej degradacji jądra i organelli komórki, przy czym należy podkreślić, że komórki te są wyraźnie ukierunkowane metabolicznie, czyli produkują tylko jednego typu związek, po czym giną. Przykładem są procesy dojrzewania erytrocytów z produkcją hemoglobiny, komórki gru-

czołów łojowych (produkcja lipidów), czy keratynocyty (produkcja keratyny) – (30, 35). Apoptoza obejmuje limfocyty T przy zakażeniu wirusem HIV (human immunodeficiency virus), neutrofile – przy grzybicy (*Candida sp.*), makrofagi (*Shigella flexneri*) oraz komórki beta wysp trzustkowych, przy cukrzycy typu II u ludzi (13). W tej ostatniej chorobie apoptozę oraz narastanie objawów klinicznych powoduje kumulacja w tych komórkach peptydu – amyliny. Charakterystycznym objawem apoptozy jest kondensacja chromatyny i fragmentacja DNA, w trawieniu którego biorą udział własne endonukleazy komórki (26). Podobne działanie enzymów ma miejsce w komórkach poddanych cytotoksycznemu działaniu TNF (tumor necrosis factor – czynnik martwicy nowotworów) (13). Proces aktywacji endonukleaz w apoptozie związany jest z wtargnięciem do cytoplazmy jonów Ca^{2+} i następnej degradacji DNA, nie jest natomiast prawdopodobnie związany z bezpośrednim działaniem perforyny, czyli glikoproteiny o m.cz. od 68 do 70 kD (11). Wykazano, że glikokortykosteroidy podnoszą poziom wapnia w cytozolu komórki, aktywują gen dla wiążącej wapń kalmomoduliny, która z kolei stymuluje endogenne nukleazy, rozkładające własne DNA (11, 19).

Apoptoza jest także negatywnym selekjonerem tymocytów grasicy, gdyż dzięki temu procesowi ginie ok. 90% tych komórek, a te które przeżyły opuszczają narząd jako dojrzałe limfocyty T (24). Selekcja negatywna zachodzi głównie w korze grasicy i eliminuje tymocyty, które z dużą swoistością i powinowactwem rozpoznają autologiczne cząsteczki MHC (major histocompatibility complex – główny układ zgodności tkankowej) lub inne antygeny ustroju, w połączeniu z cząsteczkami MHC (8). Limfocyty T z TCR alfa/beta (T – cell receptor – receptor limfocytów T) w większości mają CD^{+4} lub CD^{+8} (CD – cluster of differentiation), zaś limfocyty z TCR gamma/sigma – na ogół nie mają tych struktur (38).

Apoptozę hamuje cyklosporyna (CsA), która oddziałuje na proces aktywacji limfocytów T, hamując ich proliferację stymulowaną różnymi bodźcami, np. mitogenami. Lek ten blokuje aktywację klonów limfocytów CD^{+4} i CD^{+8} w obecności swoistych antygenów (15, 17). Limfocyty cytotoksyczne (Tc) i komórki NK (natural killers – naturalni zabójcy) powodują lizę komórek docelowych, głównie zakażonych wirusem i komórek nowotworowych. Komórki NK są u osobników zdrowych, nie uczulonych dotychczas antygenami komórek docelowych, natomiast Tc występują po wielokrotnym uczuleniu i są wysoce swoiste. Oba typy rozpoznają komórki docelowe przy pomocy receptorów łączących się z ich antygenami (35). Kontakt ten powoduje wzrost stężenia jonów wapnia w komórkach efektorowych, następową egzocytozę ziarnistości i uwol-

nienie perforyny (PFP, czyli cytolyzyny). Perforyna jest wbudowana w błonę komórki docelowej, a jony wapnia powodują jej agregację z wytworzeniem kanałów (18). Tą drogą przedostaje się do komórki sód i woda, powodując jej lizę. Istnieje także druga możliwość lizy komórki bez udziału Ca^{2+} , a mianowicie komórki Tc i NK produkują substancje cytotoksyczne, tj. Tc-toksynę, limfotoksynę i substancje podobne do TNF, które powodują aktywację endonukleaz i destrukcję DNA (8).

2. Genetyczna kontrola apoptozy

Apoptoza występuje u wszystkich tkankowców (*Metazoa*), co jest dowodem, że geny warunkujące jej program są dobrze zachowane w procesie ewolucji (28). Nazwano je genami śmierci – ced (cell death), których ekspresja uczestniczy w molekularnych procesach apoptozy (25). Pierwsze „geny śmierci” określone symbolami ced – 3, ced – 4 i ced – 9 wykryto u nicienia *Caenorhabditis elegans* żyjącego w glebie jako saprofit (7). Zauważono, że mutacje tych genów, a zwłaszcza ced – 9, zapewniające jego stałą wysoką ekspresję, zapobiegają apoptozie. Natomiast przy mutacji unieczynnijającej ww. geny, komórki giną, jak również wzrasta letalność embrionów i rośnie ilość wad rozwojowych w organizmie. Przypuszcza się, że gen ced – 9 znajduje się w komórce jajowej, a więc zarówno dominujące, jak recesywne mutacje tego genu cechuje efekt matczyny (7). Podobne badania nad inwolucją komórek na drodze apoptozy wykonano u motyla nocnego zawisaka (*Mantua sexta*), którego gąsiennica żeruje na liściach tytoniu (25). Do genu ced – 9 podobny jest ludzki gen bcl – 2 (B cell leukemia/lymphoma) (36). Jego ekspresję obserwuje się w komórkach stymulowanych do proliferacji, tj. zarówno w limfocytach prawidłowych jak i limfocytach nowotworowych, co powoduje przedłużenie życia tych komórek (2).

Apoptoza kontrolowana jest przez białkowe produkty genów, odgrywające także ważną rolę w transformacji nowotworowej. Należą tu produkty protoonkogenu c – myc, c – fos, c – jun i genów przeciwnowotworowych Rb (nazwa od *retinoblastoma* – siatkówczak, nowotwór siatkówki oka) i p 53, które to geny są aktywne nie tylko w komórkach proliferujących, ale i ulegających apoptozie (34). Wykazano między innymi, że ekspresja genu bcl – 2 może przyhamować apoptozę indukowaną przez ekspresję c – myc w fibroblastach szczurów, ale nie hamuje mitogennej funkcji c – myc (6). Skoro te same domeny c – myc mają zarówno wpływać na proliferację, jak i na apoptozę, to mechanizm działania produktów bcl – 2 i c – myc jest przykładem bardzo czułego systemu regulacji.

Inną rolę, jak gen bcl – 2 spełnia w ustroju gen supresorowy p 53, brak którego uniemożliwia indukcję apoptozy (35). Stąd eliminacja tego genu

przez delecję lub inaktywację w mutacji zapobiega apoptozie. Taki klasyczny brak ekspresji genu p 53 spotyka się w nowotworach, co może przyczynić się do zaburzeń apoptozy w ich komórkach. Jednocześnie zauważono, że brak ekspresji p 53 bardzo silnie zwiększa odporność na leki i promieniowanie (3).

3. Apoptoza doświadczalna

Przyjmuje się, że apoptoza jest zdeterminowana okolicznościami wynikającymi z programu życia o czym świadczą m.in. wrodzone i nabyte zaburzenia regulacji tego procesu.

Pierwsze badania na ten temat dotyczyły nadmiernej proliferacji lub odwrotnie, spadku ilości komórek układu limfoidalnego. U myszy z mutacją *lpr* (lymphoproliferation) wykryto defekt genu kodującego białko powierzchni komórki, czyli antygen FAS (33). Antygen ten ma wspólną część homologiczną z takimi białkami błonowymi jak TNF i NGF (nerve growth factor – czynnik wzrostu nerwów). Rolę FAS w tym procesie determinuje fenotyp myszy *lpr*, który charakteryzuje się rozregulowaniem dojrzewania i zanikiem apoptozy w tymocytach grasicy. Powstają kompleksy autoreaktywnych przeciwciał, m.in. na powierzchni DNA oraz kumulacja w węzłach chłonnych i śledzionie limfocytów T CD^{+4} i CD^{+8} .

Inną spontaniczną mutacją u myszy jest zespół *gld* (generalized lymphoproliferative disease), w którym występuje gen na aktywnym limfocycie T, kodujący liganda antygeny FAS, tj. antygeny podobnego do antygeny APO-1 (32). Obecność tego antygeny powoduje regresję B receptorowego chłoniaka u ludzi w ciągu kilku dni wśród typowych cech dla apoptozy, tj. segmentacji jąder komórkowych, zagęszczenia chromatyny i fragmentacji DNA (32). W późniejszych badaniach potwierdzono te obserwacje na limfocytach T i B prawidłowych i białaczkowych i to zarówno u ludzi jak i zwierząt (29).

Oprócz tych dwóch przykładów mutacji spontanicznych zaburzeń apoptozy istnieją także mutacje sztuczne, tj. uzyskane drogą manipulacji genetycznej. Np. u myszy wywołano stałą ekspresję genu *bcl-2*, biorącego udział w apoptozie komórek limfopoetycznych (1). Zaobserwowano zahamowanie ujemnej selekcji limfocytów B dojrzewających w centrach rozrodczych grudek chłonnych i ich kumulację. Odwrotny obraz zaburzeń apoptozy, tj. gwałtowne jej nasilenie spotyka się u myszy, które w życiu embrionalnym pozbawiono genu *bcl-2*.

3.1. Apoptoza *in vitro*

Limfocyty T działają cytotoksycznie przy współudziale perforyny lub drogą zależną od interakcji FAS (4). Te pierwsze powstają z wewnątrzkomór-

kowych ziarnistości w zależności od napływu jonów Ca^{2+} – tworząc pory i kanaliki, a gwałtownej zmianie przepuszczalności błony towarzyszy śmierć komórki. Apoptoza jest zatem częścią składową komórkowej cytotoksyczności wywieranej przez limfocyty CD^{+4} i CD^{+8} w czym uczestniczy receptor jej powierzchni – antygen APO/FAS (26). Jego ekspresja kontrolowana jest przez białkową kinazę tyrozynową.

Po aktywacji receptora antygenem limfocytów T prawidłowych lub białaczkowych, co nosi miano AIDC (activation induced cell death) dochodzi do ekspresji mRNA ligandu APO-1 i zaczyna się proces apoptozy (12). Aktywowany limfocyt T wytwarza wszystkie elementy potrzebne do samodestrukcji, czemu towarzyszy pobudzenie receptorów CD 95 i jego ligandu (9). Z kolei Brunetti i wsp. (2) wykazali, że apoptoza wymaga pozbawienia komórki czynników wzrostowych oraz interleukin (IL – 2, IL – 4 i IL – 10). Ma to szczególne znaczenie w odniesieniu do cyklu komórkowego.

Aktywacja limfocytów B jest uzależniona od swojego antygeny komórek prezentujących go – APC (antigen presenting cells) i komórek T pomocniczych, antygenoswoistych. Taką samą drogą przebiega blokowanie i hamowanie apoptozy limfocytów B, indukowanej za pośrednictwem SIg (21, 25). Czy stymulowane przez antygen limfocyty B ulegną aktywacji, czy zginą, może decydować sygnał z cząsteczki CD 40, obecnej na wszystkich limfocytach B (5). Jednocześnie należy dodać, że CD 40 należy do rodziny receptorów TNF i NGF, nie posiada aktywności kinazowej, natomiast zawiera białko wiążące, zwane CD 40 bp (binding protein) (10).

3.2. Apoptoza w komórkach nowotworowych

Zauważono, że wrażliwość lub odwrotnie oporność na apoptozę uzależniona jest od fazy cyklu komórkowego i zdolności naprawczej komórki (25). Po dodaniu do hodowli komórek ostrej białaczki szpikowej czynników wzrostowych, np. IL – 3 czy GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulation factor – czynnika stymulacji tworzenia kolonii granulocytowo-makrofagowej) następuje aktywacja wczesnej fazy G1 do fazy S cyklu, co powoduje wzrost liczby komórek w fazie S i ich nasiloną podatność na apoptozę. Aby to nastąpiło jest konieczny sygnał za pośrednictwem receptora FAS/APO (9). Zauważono także, że limfoblasty B z ostrej białaczki u dzieci ginęły *in vitro* w procesie apoptozy przy jednoczesnym bloku fazy proliferacyjnej S w wyniku 48 godzinnej inkubacji z interleukiną 4 (37). Limfocyty T cytotoksyczne zależne od IL – 2, po usunięciu z podłoża czynników wzrostowych, łatwo ulegają apoptozie, co poprzedzone jest zaburzeniami pH i zakwaszeniem komórki (13). Apoptozę komórek białaczkowych przyspieszają gli-

kokortykosteroidy, jonofory wapniowe i przeciwciała anty IgM, natomiast blokują – estry forbolu (13). Zauważono także, że wewnątrzkomórkowa chelacja wapnia udaremnia fragmentację DNA do nukleosomalnych struktur w komórkach białaczkowych (37).

Wczesnym etapem apoptozy jest, jak już wspomniano, uwolnienie perforyny z ziarnistości cytoplazmatycznych limfocytów T i komórek NK oraz proteaz serynowych i cysteinowych z granzymem B i fragmentyną – 2, zwaną przez Shi i wsp. (29) – pocałunkiem śmierci. W wyniku sygnału przez FAS w apoptozie komórki uczestniczy proteaza ICE (interleukin – 1, beta-converting enzyme) (7). Apoptozę mogą także indukować inne proteazy, tj. trypsyna, chymotrypsyna i proteaza K (5).

4. Podsumowanie

Apoptoza stanowi aktywną samozagładę nadliczbowych, niewłaściwych i bezużytecznych komórek, zarówno w okresie onto- jak i organogenezy oraz w życiu dorosłym organizmu. Jest to proces będący przeciwieństwem mitozy – symbolu proliferacji. Komórki muszą być pobudzone do przeżycia względnie do proliferacji przez sygnały z otaczających komórek, stąd kontrolę apoptozy i przeżycia komórek określa się mianem lokalnej kontroli środowiskowej (social control) (22). Przeżycie lub śmierć zależą zatem od tej samej kontroli co i proliferacja.

W opracowaniu przedstawiono molekularne aspekty apoptozy w komórkach somatycznych *in vivo* oraz badania *in vitro* z uwzględnieniem regulacyjnego wpływu ekspresji protoonkogenów i genów przeciwnowotworowych na ten proces. Omówiono hamujący wpływ genów bcl – 2 na apoptozę oraz udział czynników transkrypcji i rolę genu p 53 w aktywacji tego procesu. Z badań doświadczalnych wybrano te wiadomości, które dotyczyły genów, tj. wymuszenia stałej ich ekspresji, np. bcl – 2 lub odwrotnie ich inaktywacji (p 53) a wpływających decyzyjnie na regulację tej postaci apoptozy. Krótko opisano rolę białek przezbłonowych APO/FAS.

Zgromadzone wiadomości mają szczególne znaczenie w odniesieniu do apoptozy spowodowanej działaniem czynników chemio- i radioterapii onkologicznej. Stąd wiadomości o apoptozie, aczkolwiek dalekie jeszcze od pełnego wyjaśnienia procesu, mogą na obecnym etapie wiedzy być przyszłościowym modelem do badań nad niszczeniem komórek nowotworowych. Wiadomo bowiem, że po leczeniu nowotworów ilość komórek „pozostawionych” nie jest znana i przy małej ich liczbie, tj. $<5\%$ lub $<10^{10} = 1$ g tkanki, mówi się o minimalnej chorobie resztkowej – MRD (minimal residual disease). Jest to liczba komórek których nie można wykryć za pomocą tradycyjnych metod diagnostycznych.

Należy także wspomnieć, że zjawisko występowania komórek GO (stan spoczynku) oraz przejście ich w stan podziału G1 (tzw. program pleiotropowy) ma duże znaczenie w leczeniu nowotworów cytostatykami. Leki te eliminują komórki znajdujące się w cyklu podziałowym, pozostawiając niewrażliwe na nie komórki Go. To one po pewnym czasie wchodzą do cyklu dając początek odnowie nowotworu.

Piśmiennictwo

- Allen P. O., Bustin S. A., Newland A. C.: Blood Rev. 7, 63, 1993.
- Brunetti M., Mortelli N., Colasante A., Piantelli M., Musiani P., Aiello F. B.: Blood 86, 4199, 1995.
- Dhein J., Walczak H., Baumber C., Debatin K. M., Krammer P. H.: Nature, Lond. 373, 438, 1995.
- Duke R. C., Persechini P. M., Chamg S.: J. exp. Med. 170, 1451, 1989.
- Enari M., Hug H., Nagata S.: Nature, Lond. 375, 3976, 1993.
- Fanidi A., Harrington E. A., Eram G. I.: Nature, Lond. 359, 554, 1992.
- Hangartner M. O., Ellis R. E., Horvitz H. R.: Nature, Lond. 356, 494, 1992.
- Horst A.: Post. Biol. Kom. 19, 3, 1992.
- Hu H. M., Orourke K., Bogucki M. S., Dixit V. M.: J. biol. Chem. 269, 3069, 1994.
- Kaufman S. H., Desnoyers S., Ottaviano Y., Davidson N. E., Poirier G. G.: Cancer Res. 53, 3976, 1993.
- Kocki J., Rożynkowa D.: Post. Biol. Kom. 169, 18, 1991.
- Komada Y., Zhou X. L., Xue H. L., Sahai H., Tanaka S., Sakatoku H., Sakurai M.: Blood 86, 3848, 1995.
- Lane D. P.: Nature, Lond. 358, 15, 1992.
- Lane P.: J. exp. Med. 12, 117, 1993.
- Li J., Fastman A.: J. biol. Chem. 270, 3203, 1995.
- Mantenffel-Cymborowska M.: Post. Bioch. 39, 118, 1993.
- Martin S. J., Green D. C.: Cell 82, 349, 1995.
- McConkey D. J., Aguillar-Satelis M., Hartzell P., Eriksson I., Mellstedt H., Orrenious S., Jondal M.: J. Immun. 1, 1072, 1991.
- Murakami M., Tsubata T., Okomato M., Shimizu A., Kumagai S., Imura H., Honjo T.: Nature, Lond. 357, 77, 1995.
- Obed L. M., Linardic C. M., Karolak L. A., Hannum Y. A.: Science 259, 1769, 1993.
- Oltvai Z. N., Millman C. L., Korsmeyer S. J.: Cell 74, 609, 1993.
- Raff M. C.: Nature, Lond. 356, 397, 1992.
- Reed J. C., Tanaka S., Cuddy M.: Cancer Res. 52, 2802, 1992.
- Rożynkowa D.: Post. Biol. Kom. 21, 303, 1994.
- Rożynkowa D.: Post. Biol. Kom. 3, 341, 1996.
- Rouvier E., Luciani M. F., Goldstein P.: J. exp. Med. 373, 438, 1993.
- Salvill J., Dransfields L., Hogg N., Haslett C.: Nature, Lond. 343, 170, 1990.
- Schwarz L. M., Kosz L., Kay B. K.: Proc. natn. Acad. Sci. USA 87, 6594, 1990.
- Shi L., Kraut R. P., Aebersold R., Greenberg A.: Eur. J. Immun. 25, 3509, 1995.
- Shokat K. M., Goodnow C. C.: Nature, Lond. 375, 334, 1995.
- Takahashi T., Tanaka M., Brannan C. I., Jenkins N. A., Copland N. G., Suda T., Nagata S.: Cell 76, 969, 1994.
- Trauth B. C. C., Klas C., Peters A. M. J., Mutsch S., Moller P., Falk V., Debatin K. M., Krammer P. H.: Science 245, 301, 1989.
- Vaux D. L., Cory S., Adams S.: Nature, Lond. 335, 440, 1988.
- Watanabe-Fukunaga R., Brannan C. I., Copland N. G., Jenkins N. A., Nagata S.: Nature, Lond. 356, 314, 1992.
- Williams G. T., Smith C.: Cell 74, 777, 1993.
- Wójcik C.: Post. Biol. Kom. 20, 331, 1993.
- Wyllie A. H.: Nature, Lond. 284, 555, 1980.
- Yuan J., Shaham S., Ledoux S., Ellis H. M., Horvitz H. R.: Cell 75, 641, 1993.
- Zauling G., Gibellini D., Caputo A., Bassini A., Negrini M., Monne M., Mazzoni M., Capitani S.: Blood 86, 3823, 1995.