

Adrian Reśliński, Joanna Kwiecińska, Eugenia Gospodarek

Katedra i Zakład Mikrobiologii Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz
tel. (52) 585 40 470, e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl

Wpłynęło listopad 2007

1. Wstęp. 2. Przebieg apoptozy. 3. Hamowanie apoptozy przez bakterie. 3.1. Bezpośrednie oddziaływanie z elementami szlaku apoptozy. 3.2.1. Udział czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. 3.2.2. Udział szlaku PI3K/Akt. 4. Podsumowanie

Bacterial antiapoptotic properties

Abstract: Apoptosis or programmed cell death is an active, genetically controlled process. It is an integral part of life that maintains homeostasis in multicellular organisms. In contrast to necrosis, apoptosis allows the organism to eliminate unnecessary or damaged cells without an inflammatory reaction.

Programmed cell death also plays an important role in the pathogenesis of various infectious diseases. There is much evidence, that bacteria have the ability to induce and/or block apoptosis. Bacteria can inhibit programmed cell death in a direct or indirect way. In the first case, bacteria directly interact with the apoptotic pathway. Indirect effect on apoptosis is mediated through signal transduction pathways inside the host cell such as the nuclear factor kappa B (NF- κ B) and phosphatidylinositol-3-kinase/Akt (PI3K/Akt) pathways.

Many mechanisms by which bacterial pathogens inhibit the host cell apoptotic pathways are not fully understood. Further studies are necessary for a better understanding of the host-pathogen relationship.

1. Introduction. 2. Course of apoptosis. 3. Inhibition of apoptosis by bacteria. 3.1. Direct interaction with the elements of an apoptotic pathway. 3.2.1. Contribution of nuclear factor NF- κ B. 3.2.2. Contribution of PI3K/Akt pathway. 4. Summary

Słowa kluczowe: apoptoza, czynnik jądrowy NF- κ B, szlak PI3K/Akt

Key words: apoptosis, nuclear factor NF- κ B, PI3K/Akt pathway

1. Wstęp

Apoptoza, czyli zaprogramowana śmierć komórki jest procesem umożliwiającym utrzymanie homeostazy w organizmach wielokomórkowych. Uczestniczy w wielu procesach: w usuwaniu komórek z nieodwracalnie uszkodzonym DNA, ontogenezie, odnowie tkankowej czy odpowiedzi immunologicznej. W odróżnieniu od martwicy, nie wywołuje odczynu zapalnego w trakcie usuwania komórek [6].

Apoptoza wpływa także na patogenezę chorób zakaźnych. Bakterie wykształciły wiele mechanizmów indukujących zaprogramowaną śmierć zakażonych komórek [69, 76]. W ostatnich latach pojawiły się liczne dowody wskazujące na to, że drobnoustroje wykazują właściwości antyapoptotyczne. Konsekwencją tego może być nabywanie przez zakażone komórki cech nowotworowych, co obserwuje się w przypadku zakażeń z udziałem *Helicobacter pylori* [67] lub *Chlamydia trachomatis* [33]. Prawdopodobnie działanie antyapoptotyczne *Neisseria meningitidis* jest jednym z mechanizmów modyfikujących odpowiedź immunologiczną zakażonego organizmu. Umożliwia tym bakteriom adaptację do warunków panujących w komórkach gospodarza i dalszy rozwój zakażenia [46]. Podobne znaczenie mają właściwości antyapoptotyczne *Salmonella Typhimurium* [32]. Wykazano, że hamowanie apoptozy

monocytów przez bakterie *Bartonella henselae* prowadzi do przedłużonego wytwarzania czynnika wzrostu VEGF (*vascular endothelial cell growth factor*), mającego znaczenie w patogenezie takich chorób jak naczyniowatość bakteryjna czy płamica wątrobowa [30].

2. Przebieg apoptozy

Apoptoza jest złożonym procesem, któremu może podlegać właściwie każda komórka organizmu. Jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania każdego organizmu. Podlega szeregowi regulacji, również ze strony bakterii lub ich metabolitów.

Do zapoczątkowania apoptozy niezbędna jest inicjacja, która może przebiegać jedną z dwóch głównych dróg: zewnątrzpochodną, do których zaliczana jest ścieżka receptorowa i szlak zależny od perforyn i granzymów oraz wewnątrzpochodną, zależną od mitochondrium lub siateczki śródplazmatycznej [25].

Droga zewnątrzpochodna wymaga połączenia ligandu z odpowiednim receptorem na powierzchni komórki docelowej. Z tego powodu określana jest mianem receptorowej. Do receptorów, które biorą udział w tej drodze inicjacji apoptozy, należą: Fas, TRAIL (*TNF related apoptosis inducing ligand*), TNFR (*tumor necrosis factor receptor*). Ich charakterystyczną cechą

jest obecność domeny śmierci (*death domain*, DD). W wyniku połączenia receptora z ligandem dochodzi do jego oligomeryzacji i rekrutacji białek adaptorowych związanych z DD Fas (*adaptor protein Fas-associated death domain*, FADD), które razem z prokaspazą-8 tworzą kompleks DISC (*death-inducing signaling complex*). DISC ma zdolność proteolizy zymogenu kaspazy-8 do jej aktywnej formy, co uruchamia kaskadę kaspaz [25].

W drodze wewnątrzprochodnej w inicjacji apoptozy biorą udział cząsteczki, które znajdują się w obrębie mitochondrium, a od cytoplazmy komórkowej oddziela je podwójna błona mitochondrialna. Zaburzenia w polaryzacji tej błony wywołują zmiany przepuszczalności, m.in. dla cząsteczek cytochromu c, białka Smac/DIABLO (*second mitochondria derived activator of caspase/direct IAP binding protein with low PI*, Smac/DIABLO).

Za utrzymanie właściwej polaryzacji błon mitochondrialnych odpowiadają białka z rodziny Bcl-2 (*B cell leukemia/lymphoma-2*, Bcl-2). Jedną grupą tych białek, do których należą Bcl-X_L, Bcl-2, A1/Bfl-1, Mcl-1, zwiększa integralność błon mitochondrium. Białka Bak, Bok/Mtd, Bax, Bcl-X_S, Bid, Bim/Bod, Bad, MAP-1, Bmf zaliczane są do drugiej grupy, którą określa się jako proapoptotyczne [41].

Po uwolnieniu cząsteczek cytochromu c do cytoplazmy, łączą się one z czynnikiem aktywującym proteazy apoptozy (*apoptosis protease-activating factor 1*, Apaf-1), ATP i prokaspazą-9. Dochodzi do aktywacji kaspazy-9, która zapoczątkowuje kaskadę kaspaz [25].

Trzecia ścieżka aktywacji apoptozy przebiega z udziałem perforyn, które są zlokalizowane w błonie komórkowej. Perforyny wiążą wybiórczo granzym B,

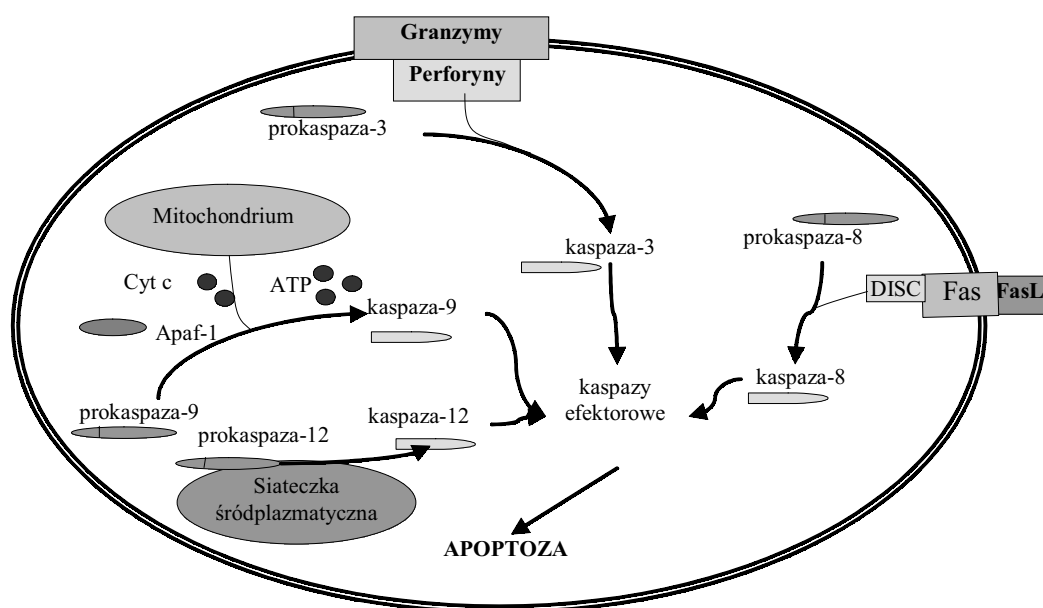
czego konsekwencją jest uszkodzenie błony komórkowej i uaktywnienie bezpośrednio kaspazy-3.

Czwarta ścieżka, zależna od siateczki śródplazmatycznej i zależna od aktywacji kaspazy-12 pozostaje nadal słabo poznana.

Bez względu na rodzaj drogi inicjacji, kolejne etapy apoptozy przebiegają jednakowo. Obejmują one aktywację kaspaz wykonawczych, do których zaliczane są kaspazy-3, -6, -7. W wyniku ich działania dochodzi do uaktywnienia białek odpowiedzialnych za kondensację i fragmentację DNA, zagęszczenie cytoplazmy i wytworzenie charakterystycznych dla apoptozy ciałek apoptotycznych, które zawierają elementy cytoplazmy, organelli komórkowych i chromatyny [25]. Schemat przebiegu apoptozy przedstawia rys. 1.

3. Hamowanie apoptozy przez bakterie

Bakterie wykształciły wiele mechanizmów hamujących apoptozę. Mogą wywierać bezpośredni lub pośredni wpływ na zaprogramowaną śmierć komórek. Pierwszą możliwością jest związana z bezpośrednim niszczeniem lub blokowaniem czynników uczestniczących w apoptozie. Natomiast działanie pośrednie jest zależne od szlaków przekąźnikowych zlokalizowanych wewnątrz zakażonej komórki takich, jak NF-κB czy PI3K/Akt. Są one aktywowane przez struktury bakteryjne wiążące się z receptorem na powierzchni komórki gospodarza lub przez substancje wytwarzane przez drobnoustroje i transportowane do ich wnętrza. Nie wszystkie mechanizmy są w pełni poznane, a wiele z nich opartych jest w dużym stopniu na hipotezach (tab. I).



Rys. 1. Przebieg apoptozy

Tabela I

Hamowanie apoptozy przez bakterie

Bezpośrednie oddziaływanie bakterii z elementami szlaku apoptozy	Pośredni wpływ na apoptozę	
	Udział czynnika jądrowego NF-κB	Udział szlaku PI3K/Akt
<i>Chlamydia trachomatis</i> [59, 70] <i>Neisseria gonorrhoeae</i> [3] <i>Mycobacterium tuberculosis</i> [1] <i>Neisseria meningitidis</i> [45, 46] <i>Escherichia coli</i> O103 [20] <i>Escherichia coli</i> K1 [68]	<i>Rickettsia rickettsii</i> [9] <i>Ehrlichia chaffeensis</i> [84] <i>Helicobacter pylori</i> [42, 56, 81] <i>Escherichia coli</i> [16] <i>Staphylococcus epidermidis</i> [48] <i>Staphylococcus aureus</i> [40] <i>Bartonella henselae</i> [30] <i>Neisseria gonorrhoeae</i> [4] <i>Chlamydia pneumoniae</i> [75]	<i>Chlamydia trachomatis</i> [74] <i>Salmonella Typhimurium</i> [32] <i>Porphyromonas gingivalis</i> [82]

3.1. Bezpośrednie oddziaływanie z elementami szlaku apoptozy

Do bakterii wywierających bezpośredni wpływ na zaprogramowaną śmierć komórki należą *Chlamydia* spp., które hamują apoptozę poprzez proteolityczną degradację białek BH3-only (*Bcl-2* homology domain 3 only) takich, jak: Bim, Puma, Bad [15], Bmf, Noxa, tBid [83] i Bik [12]. Białka BH3-only są czynnikami proapoptotycznymi. Aktywują białka Bax i Bak, powodujące uwolnienie cytochromu c z mitochondrium [29]. Jak wynika z badań Pirbhai i wsp. [59] za proteolityczną degradację białek BH3-only w komórkach zakażonych przez *C. trachomatis* jest odpowiedzialna wydzielana do cytozolu proteaza CPAF (*Chlamydia protease/proteasome-like activity factor*).

Mechanizm antyapoptotycznego działania bakterii z rodzaju *Chlamydia* może być także związany z sekwestracją kinazy białkowej Cδ (*protein kinase Cδ*, PKCδ) na wodniczki lub ich bezpośredniej bliskości [70]. Enzym PKCδ jest czynnikiem proapoptotycznym. Aktywowana kinaza przemieszcza się do mitochondrium [35, 44], gdzie wpływa na uwolnienie cytochromu c [44]. Zdaniem badaczy czynnikiem odpowiedzialnym za odizolowanie kinazy białkowej Cδ od miejsca docelowego działania, jest obecny w wodniczkach DAG (diacyloglicerol), wiążący się z domeną C1 enzymu [70].

Drobnoustroje mogą niszczyć receptory niezbędne do indukcji apoptozy. Jak wynika z badań Beck i wsp. [3] bakterie *Neisseria gonorrhoeae* wytwarzają proteazę IgA1, która powoduje proteolityczną degradację receptora TNF-RII (*tumor necrosis factor receptor II*) znajdującego się na powierzchni komórek monocytarnych U937 i zapobiega apoptozie wywoływanej przez TNFα (*tumor necrosis factor α*).

Prątki *Mycobacterium tuberculosis* są zdolne do hamowania apoptozy ludzkich makrofagów również przez mechanizm zależny od TNF-α [1]. W wyniku zakażenia makrofagów szczepami *M. tuberculosis* dochodzi do wzrostu syntezy IL-10, która ma zdolność

wywoływania akumulacji rozpuszczalnych receptorów dla TNFα (*soluble TNFα receptor 2*, sTNFR2). sTNFR2 wiąże TNFα, tworząc nieaktywny biologicznie kompleks ligand-receptor. Zablockowany TNFα nie posiada zdolności indukowania apoptozy, przez co makrofag zachowuje zdolność proliferacji.

Bezpośredni wpływ bakterii na zaprogramowaną śmierć komórek jest związany hamowaniem aktywności kaspazy, kluczowych enzymów apoptozy. Z badań Heczki i wsp. [20] wynika, że enteropatogenne szczepy *Escherichia coli* O103 (*enteropathogenic E. coli* O130, EPEC O130) mogą hamować apoptozę króliczych komórek jelita i kępek Peyera. Mechanizm tego działania nie został jeszcze w pełni wyjaśniony, ale prawdopodobnie zależy od wydzielania przez pałeczki EPEC wirulentnego białka, które bezpośrednio hamuje aktywność kaspazy-3.

W inny sposób hamuje apoptozę makrofagów linii THP-1 (*human monocytic leukemia cell line*) wywołowaną czynnikami chemicznymi *Orientia tsutsugamushi* [31]. Mechanizm ten jest niezależny od NF-κB i obejmuje zahamowanie uwalniania wewnątrzkomórkowego wapnia. Czynnikiem odpowiedzialnym za zablokowanie apoptozy jest przypuszczalnie termostabilne białko syntetyzowane przez *O. tsutsugamushi*, ale nieznanym jest szlak przekazywania sygnału do komórki gospodarza.

Drobnoustroje mogą bezpośrednio oddziaływać z błoną mitochondrium zapobiegając uwolnieniu cytochromu c. Według Massari i wsp. [45, 46] zlokalizowana na błonie zewnętrznej *Neisseria meningitidis* poryna PorB, w zakażonej komórce wiąże się z mitochondrium. Białko PorB oddziałuje z białkowym składnikiem por mitochondrialnych, poryną VDAC (*voltage-dependent anion channel*, zależny od napięcia kanał anionowy) stabilizując elektrycznie błony mitochondrialne i zapobiegając uwolnieniu cytochromu c do cytozolu [45]. Jak wynika z badań Vander Heiden i wsp. [71] zamknięcie VDAC zapobiega wymianie ATP i ADP pomiędzy cytozolem i macierzą mitochondrium, co prowadzi do nagromadzenia fosfokreatyny

w przestrzeni międzybłonowej. Zaburzenia mitochondrialnej wymiany ATP/ADP są uważane za jeden z czynników mogących brać udział w inicjacji apoptozy [72]. Być może poryna PorB wpływa na kanał anionowy zależny od napięcia w sposób podobny do antyapoptotycznej proteiny Bcl-x_L, która hamuje zamknięcie VDAC i utrzymuje przepuszczalność zewnętrznej błony mitochondrium dla ATP i ADP [73].

Blokowanie depolaryzacji błon mitochondrium makrofagów zaobserwowano u pałeczek *E. coli* [68]. Szczepy *E. coli* K1, które wytwarzają zewnętrzne białko błonowe A (*outer membrane protein A*, OmpA) aktywują transkrypcję *Bcl-x_L* – antyapoptotycznych genów, których produkty zapobiegają przemieszczeniu cząsteczek cytochromu c z mitochondrium do cytoplazmy. Ponadto, w makrofagach zakażonych *E. coli* K1 dochodzi do spadku aktywności kaspazy-3, -6 i -9. Obecność białka OmpA jest niezbędna dla replikacji i przeżycia *E. coli* K1 wewnątrz makrofagów. Sam mechanizm antyapoptotyczny nie jest jasny, ale prawdopodobnie jest związany z receptorami dla OmpA obecnymi na makrofagach [68].

3.2.1. Udział czynnika jądrowego NF-κB

Jądrowy czynnik-κB (*nuclear factor-κB*, NF-κB) pełni ważną rolę jako regulator transkrypcji. Aktywuje ekspresję szeregu genów, m. in., związanych z działaniem antyapoptotycznym. Pośrednio wpływa na apoptozę przez białka cFLIP, które jest inhibitorem kaspazy 8 [18].

Rodzinę białek tworzących czynnik transkrypcji jądrowej NF-κB ssaków tworzy 5 cząsteczek Rel, do których należą: NF-κB1 (p105/p50), NF-κB2 (p100/p52), RelA (p65), c-Rel, RelB. Białka NF-κB1 i NF-κB2 powstają w komórce w postaci nieaktywnych cząsteczek prekursorowych p105 i p100, które w trakcie modyfikacji potranslacyjnej zostają przekształcone w aktywne białka p50 i p52 [5].

Wszystkie białka Rel posiadają na N-końcu konserwatywną domenę homologiczną Rel (*rel homology domain*, RHD), której sekwencja wiąże białka hamujące (*inhibitor – κB*, IκB) i sekwencje docelowe w obrębie łańcucha DNA. Ważnym elementem RHD jest sekwencja lokalizacji jądrowej (*nuclear localisation signal*, TLS), która jest odpowiedzialna za przemieszczenie NF-κB do jądra komórkowego [62].

Cząsteczki Rel tworzą formy złożone, będące homolub heterodimerami. Najczęstszą postacią jest heterodimer zbudowany z podjednostek RelA (p65) i NFκB1 (p50) [18].

Fizjologicznie NF-κB znajduje się w cytoplazmie w nieaktywnej postaci. NF-κB jest związany ze swoim inhibitorem – IκB (IκBα, IκBβ, IκBγ/p105, IκBδ/p100, IκBζ, IκBε i Bcl-3). Aktywacja NF-κB w komórce

może nastąpić dwiema drogami. Pierwsza z nich określana jest mianem klasycznej i obejmuje przede wszystkim działanie kinaz IκB (*IκB – kinases*, IKK). Aktywacja IKK prowadzi do fosforylacji dwóch specyficznych reszt serynowych IκB, czego efektem jest przyłączenie do IκB cząsteczek ubikwityny i proteoliza z udziałem podjednostki 26S proteasomu. W wyniku degradacji IκB zostają odsłonięte sekwencje TLS, uwolnione cząsteczki dimeru NF-κB zostają przemieszczone do jądra komórkowego, gdzie regulują ekspresję określonych genów.

Bodźce stymulujące mogą poprowadzić do aktywacji innych kinaz, fosforylujących białka inhibitorowe IκB. Należą do nich: kinazy białkowe aktywowane mitogenami (*mitogen activated protein kinase*, MAPK), kinazy MEKK 1, 2, 3 (*MAPK/ERK kinase*), kinaza białkowa Akt (*Akt/Protein kinase*), kinaza białkowa C ζ (*protein kinase Cζ*, PKC ζ) [62].

Druga z dróg aktywacji NF-κB – alternatywna, dotyczy NF-κB, które jest dimerem RelB i p52. Czynniki aktywującymi ten szlak, są przede wszystkim cytokiny. Wymaga on działania IKKα oraz kinaz indukujących NF-κB (*NF-κB inducing kinases*, NIK). NIK katalizuje fosforylację IKKα, które w tej postaci powoduje przekształcenie nieaktywnego p100 do jego czynnej formy – p52. Kompleks RelB/p52 zostaje przemieszczony do jądra komórkowego [62].

Aktywacja NF-κB przez bakterie lub ich produkty zachodzi za pośrednictwem receptorów TLR (*Toll-like receptor*, TLR) klasyczną drogą [5, 61]. TLR są konserwatywnymi receptorami rozpoznającymi wzorzec (*pattern recognition receptor*, PRR), prezentowany przez różne drobnoustroje (*pathogen-associated microbial pattern*, PAMP) [19].

Receptory TLR2 wiążą się z peptydoglikanem i lipoproteinami bakterii Gram-dodatnich, TLR4 z lipopolisacharydem (LPS) bakterii Gram-ujemnych, TLR5 rozpoznają rzęski bakteryjne, a TLR9 – niezmetylowany bakteryjny DNA [19, 43]. Niezależnie od typu receptora TLR dochodzi do ekspresji genów zależnych od NF-κB.

Niezbędna dla aktywacji TLR jest obecność białka adaptorowego (*myleoid-differentiation marker*, MyD88). MyD88 posiada również dwie domeny: TIR i domenę śmierci (*death domain*, DD). Interakcje pomiędzy domenami MyD88 i TLR prowadzą do aktywacji kinaz serynowo-treoninowych związanych z receptorem dla IL-1 (*IL-1 RI associated protein kinases*, IRAK). W wyniku szeregu procesów dochodzi do aktywacji kinazy aktywującej NF-κB (*NF-κB inducing kinase*, NIK), która fosforyluje i aktywuje trzy podjednostki IKK (IKKα, IKKβ i IKKγ). IKK uwalniają NF-κB z jego nieaktywnego kompleksu z IκB [19].

K r a p p m a n n i wsp. [34] udowodnili, że LPS poprzez wiązanie się z TLR4 wywołuje aktywację

NF- κ B, który z kolei reguluje aktywność transkrypcyjną AP-1 (*activating protein-1*, AP-1).

NF- κ B jest czynnikiem, który reguluje ekspresję około 150 genów. Wykazano jego anty- i proapoptyczne działanie [37]. NF- κ B ma zdolność hamowania apoptozy, w której uczestniczy TNF- α w pierwotnych fibroblastach ludzkich i szczurzych, komórkach T Jurkat i komórkach T24 linii ludzkiego raka pęcherza. Odgrywa również rolę w apoptozie zróżnicowanych makrofagów, w którą zaangażowane są PPAR α i PPAR γ .

Zidentyfikowano szereg produktów genów antyapoptycznych regulowanych przez NF- κ B. Należą do nich m.in. inhibitory apoptozy (*inhibitors of apoptosis*, IAPs), białkowe inhibitory kaspazy-8 (*FADD-like interleukin-1 β -converting enzyme-like protease*, cFLIP), A1 określanego też jako Bfl1, czynniki związane z TNFR (*TNFR-associated factor*, TRAF) [28].

W grupie IAP wyróżnia się kilka rodzajów białek, do których należą, m. in., komórkowe inhibitory apoptozy (*cellular inhibitor of apoptosis*, cIAP), inhibitory związane z chromosomem X (*X-linked inhibitor of apoptosis protein*, XIAP) [28]. cIAP działają antyapoptycznie poprzez bezpośrednie wiązanie się z kaspazami efektorowymi: kaspazą-3 i -7, zapobiegając aktywacji proteolitycznej prokaspazy-6 i -9. Antyapoptyczne działanie XIAP polega również na blokowaniu kaspaz-3 i -7, co uniemożliwia aktywację prokaspazy-9.

W inny sposób antyapoptycznie działają białka cFLIP [28]. Zawierają dwie efektorowe domeny śmierci (*death effector domains*, DEDs) i katalitycznie nieaktywną domenę podobną do kaspaz. cFLIP hamuje apoptozę poprzez działanie na prokaspazę-8. Dodatkowo cFLIP oddziałuje z TRAF2 i białkami działającymi z receptorami (*receptor-interacting protein*, RIP), które są odpowiedzialne za aktywację JNK i IKK przez kompleks TNFR1. Aktywne białko cFLIP powoduje nasilone uwalnianie NF- κ B [28].

NF- κ B może wpływać na drogę apoptozy zależną od mitochondriów [28]. Poprzez oddziaływania z białkami rodziny Bcl-2: A1 i Bcl_{XL} stabilizuje błony mitochondrialne i zapobiega uwalnianiu cząsteczek cytochromu c. Białko A1 hamuje także aktywację kaspazy-9.

Z badań Clifton i wsp. [9] wynika, że antyapoptyczny mechanizm zależny od aktywacji NF- κ B wykorzystują bakterie z rodzaju *Rickettsia*. Szczepy *R. rickettsii* są obligatoryjnymi patogenami wewnątrzkomórkowym, które są odpowiedzialne za szereg zakażeń śród błonka naczyniowego.

Badania przeprowadzono na komórkach ludzkiego śród błonka (*endothelial cells*, ECs). Po zakażeniu ECs *R. rickettsii* dochodziło do wzrostu aktywności NF- κ B w jądrze komórkowym [9]. Zmiana aktywności NF- κ B miała charakterystyczny – dwufazowy przebieg. Pierwszy szczyt wzrostu aktywności obserwowano po trzech

godzinach od zakażenia ECs, a drugi – pomiędzy 18 a 24 godziną. Zaobserwowano, że wzrost NF- κ B jest poprzedzony zwiększeniem aktywności IKK α i IKK β , które prowadzą do fosforylacji I κ B α , a w konsekwencji do jego proteolizy i uwolnienia aktywnej formy NF- κ B [9]. Wyniki pomiaru poziomu mRNA dla I κ B α w grupie komórek zakażonych były siedmiokrotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Nieznany jest czynnik, który aktywuje IKK.

Konsekwencją aktywacji NF- κ B jest zablokowanie przekształcania prokaspazy-8 i -9, co hamuje kaskadę kaspaz. Badania Joshi i wsp. [27] dowodzą, że w czasie zakażenia *R. rickettsii* dochodzi do stabilizacji błon mitochondrialnych. Odpowiedzialne za to są białka z rodziny Bcl-2 [26].

Mechanizm związany z aktywacją NF- κ B zaobserwowano także u *Ehrlichia chaffeensis* [84]. Jest to obligatoryjny patogen wewnątrzkomórkowy, który przebywa w endosomach monocytów. Zhang i wsp. [84] przeprowadzili badania na ludzkich monocytach linii TPH1. Zaobserwowali, że zakażenie TPH1 *E. chaffeensis* powoduje aktywację NF- κ B oraz BCL2A1, BIRC3, IER3 i MCC1, które należą do grupy białkowych inhibitorów apoptozy. W pierwszych 7 godzinach od zakażenia hodowli dochodziło do represji antagonistów Bcl-2: BIK i BNIP3L. Prowadziło to do ustabilizowania błon mitochondrialnych i zatrzymania cząsteczek cytochromu c w obrębie mitochondrium. Powoduje to zatrzymanie wewnątrzkomórkowego szlaku apoptozy. Szczepy *E. chaffeensis* hamują także drogę kinaz Janusowych (*Janus kinase*, JAK) i białka przekazującego sygnały i aktywatora transkrypcji (*signal transducers and activators of transcription*, STAT) [84]. JAK1-STAT1 są hamowane we wczesnej fazie zakażenia *E. chaffeensis*.

JAK-STAT pełni kluczową rolę w sygnalizacji cytokinowej. JAK uczestniczy w przenoszeniu aktywacyjnych grup fosforowych na białka STAT. Aktywny STAT jest natychmiast transportowany z cytoplazmy do jądra komórkowego i angażowany w wiązanie DNA, co powoduje aktywność transkrypcyjną odpowiednich genów, w zależności od czynnika stymulującego JAK. Ligandy dla receptorów wiążących JAK to: IFN- α , - β , - γ , IL-2, IL-7, IL-10, IL-13, IL-15, erytropoetyna, hormon wzrostu, prolaktyna, trombopoetyna i inne polipeptydy. Konsekwencją aktywacji JAK-STAT przekazywanie sygnałów z zewnątrz komórki do jej jądra. Zaburzenia w sygnalizacji komórkowej powodują, że staje się ona mniej wrażliwa na bodźce apoptotyczne [84].

E. chaffeensis powoduje obniżenie syntezy kinaz 2 fosforyzujących N-koniec białka Jun (*c-Jun amino-terminal kinase*, JNK2) podczas wczesnej fazy zakażenia [84]. Brak JNK2 stabilizuje błony mitochondrialne, co zapobiega przedostawaniu się cząsteczek

cytochromu c do cytoplazmy komórkowej. Innym działaniem JNK2 jest fosforylacja białka Jun, zwiększająca jego aktywność transkrypcyjną. c-Jun razem z c-Fos, jest składnikiem białek apoptotycznych AP-1. Zahamowanie syntezy JNK2 wywołuje więc, poprzez spadek fosforylacji Jun, spadek poziomu czynnika transkrypcyjnego AP-1 [84].

Podczas zakażenia *E. chaffeensis* dochodzi dodatkowo do zmiany aktywności niektórych cyklin i kinaz białkowych zależnych od cyklin (*cyclin-dependent protein kinases*, CDKs) [84]. We wczesnej fazie zakażenia następuje obniżenie syntezy CDC2, CDK5, CDK8 i cykliny G1, które zatrzymują cykl komórkowy w fazie G1. W późnym etapie zakażenia wzrasta poziom cykliny E i CDC25, które odpowiadają za wejście komórki w fazę replikacji DNA. Dochodzi do intensywnej proliferacji komórki.

Działanie antyapoptotyczne przez NF- κ B zaobserwowali Maeda i wsp. [42]. Szczepy *Helicobacter pylori*, wydzielające białka cagA kodowane przez geny związane z wyspą patogenności cag (*cagA pathogenicity island*, cagPAI), są zdolne do aktywacji cykliny D1, Elk-1 i białka c-Fos, które są zaangażowane w proliferację komórkową i mogą odgrywać pewną rolę w karcinogenezie przez aktywację ERK/MAPK. Białka cagA są wydzielane przez IV system sekrecji białek (*type 4 secretion system*, T4SS) [17].

Badania Yana i wsp. [81] dowodzą, że szczepy *H. pylori* cagPAI aktywują NF- κ B, które jest odpowiedzialne za indukcję cIAP2. Zaobserwowano, że w komórkach ludzkiego gruczołakora żołądka z linii MKN45 dochodzi do wzrostu transkrypcji mRNA dla cIAP2. cIAP2 powoduje nasiloną ubikwitynację kaspazy-3 i -7, co hamuje szlak apoptozy. Podanie inhibitorów NF- κ B w tych komórkach wywoływało spadek ekspresji cIAP2, co jednoznacznie świadczy o udziale NF- κ B w szlaku antyapoptotycznym indukowanym *H. pylori* cagPAI.

Hirata i wsp. [21] wykazali, że szczepy *H. pylori* cagPAI powodują aktywację w komórkach raka żołądka linii AGS obu podjednostek IKK: α i β . IKK β odpowiada za aktywację NF- κ B, działając jak kinaza I κ B α , natomiast IKK α – zostaje przemieszczone do jądra komórkowego i jest konieczne do wywołania właściwej odpowiedzi zapalnej. Znamienne rolę przypisuje się aktywacji kinazy serynowo-treoninowej TAK1 (*TGF-beta-activated kinase*), która odpowiada bezpośrednio za fosforylację IKK.

Z badań prowadzonych przez Ohmae i wsp. [56] wynika, że supresja apoptozy ludzkich limfocytów B i fibroblastów zachodzi z udziałem aktywacji alternatywnej drogi NF- κ B. Odpowiada za to LPS *H. pylori*, natomiast nie jest zależne od obecności genu *cag*.

Udział klasycznej drogi aktywacji NF- κ B zaobserwowano w przypadku zahamowania śmierci makrofa-

gów linii RAW 264.7 i wywodzących się ze szpiku kostnego zakażonego *E. coli* [16]. Komórki gospodarza po fagocytozie *E. coli* wykazywały wzrost ekspresji *Bcl-2*, co stabilizuje potencjał błonowy mitochondrium, wzmożoną syntezę cIAP-2 oraz blokowanie kaskady kaspaz efektorowych.

Li i wsp. [38] zaobserwowali, że pałeczki *E. coli*, które wytwarzają werotoksynę 2 (*Verotoxin-2*, VT-2), są w stanie hamować spontaniczną apoptozę neutrofilii. W badaniach *in vitro* podanie inhibitora PKC powodowało zniesienie antyapoptotycznego działania VT-2, co sugeruje mechanizm zależny od PKC. Aktywacja PKC może prowadzić do uwalniania NF- κ B w komórce gospodarza, który może być bezpośrednio zaangażowany w proces regulacji apoptozy komórek zakażonych *E. coli* VT-2 [7].

Hamowanie spontanicznej apoptozy zostało udowodnione w przypadku *Staphylococcus epidermidis* [36]. Liles i wsp. [36] wyizolowali modulinę rozpuszczalną w fenolu (*phenol-soluble modulin*, PSM). Jest to związek syntetyzowany przez drobnoustroje o właściwościach stymulacji wytwarzania cytokin pozapalnych. *In vitro* PSM hamuje spontaniczną apoptozę neutrofilii i monocytów. W przypadku monocytów linii THP-1 mechanizm tego zjawiska obejmuje aktywację NF- κ B [48].

Kwas lipoteicholowy *S. aureus* wykazuje aktywność antyapoptotyczną w stosunku do neutrofilii [65]. Z badań Lotz i wsp. [40] wynika, że w mechanizmie indukcji genów antyapoptotycznych zaangażowane są obecne na komórce neutrofilii receptory CD14 i TLR2, których aktywacja wywołuje uwalnianie NF- κ B z połączenia z inhibitorem. Moreillon i wsp. [50] wykazali, że aktywacja genów antyapoptotycznych (BIRC3, SGK, PIM, BCL2A1) zachodzi głównie w przypadku zakażenia komórek nabłonka oddechowego bezkomórkowym supernatantem *S. aureus*, zaś w mniejszym stopniu – żywymi komórkami. Czynnikiem, odpowiedzialnym za wzmożenie transkrypcji genów hamujących apoptozę, jest prawdopodobnie białko związane ze ścianą komórkową, rozpuszczalne w wodzie.

Zdaniem Kempf i wsp. [30] antyapoptotyczne działanie *Bartonella henselae* wobec komórek monocytarnych linii Mono Mac 6 jest związane z aktywacją czynnika transkrypcyjnego NF- κ B oraz ze wzrostem poziomu komórkowych inhibitorów apoptozy cIAP-1 i -2 zależnych od NF- κ B. Inhibitory apoptozy (*inhibitor of apoptosis proteins*, IAPs), do których należą cIAP-1 i -2 hamują kaspazę-3, -7, -9 [11].

Stwierdzono, że hamowanie apoptozy komórek śródbłonka naczyniowego przez bakterie *B. henselae* i *B. quintana* jest zależne od IV systemu sekrecji VirB/VirD₄ [63, 64]. Czynnikiem antyapoptotycznym jest białko efektorowe BepA dostarczane do wnętrza komórki przez T4SS. W komórkach śródbłonka naczy-

niowego białko BepA wiąże się z błoną plazmatyczną i powoduje wzrost wewnątrzkomórkowego poziomu cyklicznego adenozynomonofosforanu (cAMP). Zdaniem Schmid i wsp. [63] zwiększenie zawartości cAMP wewnątrz komórki może wynikać z bezpośredniego wpływu białka BepA na cyklazę adenylową. Może być także efektem oddziaływania z białkami G związanymi z błoną plazmatyczną lub też z receptorami sprzężonymi z białkiem G regulującymi aktywność cyklazy. Nie wiadomo, w jaki sposób cAMP zapobiega apoptozie komórek śródbłonna naczyniowego. Być może powoduje indukcję komórkowego inhibitora apoptozy 2 cIAP-2 [53]. Według badaczy działanie białka BepA jest niezależne od czynnika jądrowego NF- κ B [63]. Być może odmienne wyniki w stosunku do badań Kempf i wsp. [30] wynikają z zastosowania różnych linii komórkowych.

Jak wynika z badań Binicker i wsp. [4] antyapoptyczny wpływ *N. gonorrhoeae* na komórki nabłonkowe cewki moczowej jest związany z udziałem czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Stwierdzono, że składnik błony zewnętrznej, białko Por IB, powoduje aktywację czynnika NF- κ B i wzrost ekspresji zależnych od niego genów *bfl-1*, *cox-2* i *c-IAP2*, których białkowe produkty mogą hamować zaprogramowaną śmierć komórki na drodze różnych mechanizmów. Białko Bfl-1 oddziałuje z czynnikami proapoptycznymi i zapobiega uwolnieniu cytochromu c z mitochondrium [77, 85]. Nadekspresja białka COX-2 powoduje zależny od aktywacji szlaku PI3K/Akt wzrost poziomu białka Mcl-1 [39] hamującego proapoptyczny czynnik Bok [24]. Wykazano również, że białko Mcl-1 może hamować apoptozę powodowaną nadekspresją c-Myc [60] oraz wiązać się z białkiem Bax, powodując jego sekwestrację [78]. Dokładny mechanizm działania poriny Por IB *N. gonorrhoeae* nie jest w pełni znany.

Hamujący wpływ bakterii z rodzajów *Chlamydia* i *Chlamydophila* na zaprogramowaną śmierć różnych typów komórek może być związany z czynnikiem transkrypcyjnym NF- κ B, chociaż istnieją sprzeczne doniesienia na ten temat [14, 75, 79].

Według Wahl i wsp. [75] *Ch. pneumoniae* indukuje zależną od NF- κ B ekspresję inhibitora apoptozy c-IAP2 (*cellular inhibitor of apoptosis 2*) w zakażonych komórkach monocytarnych Mono Mac 6. Odmienne wyniki uzyskali Fisher i wsp. [14]. Zdaniem badaczy antyapoptyczne działanie *Ch. pneumoniae* wobec komórek HeLa związane z zablokowaniem uwolnienia cytochromu c i zależnej od niego aktywacji kaspaz nie wymaga udziału NF- κ B. Również Xiao i wsp. [79] zauważyli, że bakterie *C. trachomatis* zapobiegają apoptozie zakażonych komórek HeLa niezależnie od czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Zarówno chemiczne zablokowanie aktywacji NF- κ B, jak usunięcie genu p65 kodującego ten czynnik, nie wpłynęło na ha-

mowanie zaprogramowanej śmierci komórek HeLa. Być może odmienne wyniki badań są spowodowane użyciem różnych linii komórkowych lub szczepów bakteryjnych.

3.2.2. Udział szlaku PI3K/Akt

Z antyapoptycznym działaniem bakterii jest związany także szlak przekąnikowy obejmujący 3-kinazę fosfatidylinozytolu (*phosphatidylinositol-3-kinase*, PI3K) oraz kinazę Akt. 3-kinaza fosfatidylinozytolu jest enzymem składającym się z podjednostki katalitycznej (P110) oraz podjednostki adaptorowej/regulatorowej (P85), aktywowanej przez receptory o aktywności kinazy tyrozynowej (*receptors tyrosine kinase*, RTK) i receptory sprzężone z białkiem G (*G protein-coupled receptor*, GPCR). Aktywny enzym PI3K przekształca 4,5-difosforan fosfatidylinozytolu w 3,4,5-trifosforan fosfatidylinozytolu [57].

Enzym Akt jest kinazą serynowo-treoninową nazywaną także kinazą białkową B (*protein kinase B*, PKB). Występuje u ssaków w postaci trzech izoform: Akt1 (PKB α), Akt2 (PKB β) i Akt3 (PKB γ), z których każda posiada N-końcową domenę PH (*pleckstrin homology domain*), domenę środkową kinazy oraz C-końcową domenę regulatorową. Kinaza Akt ulega przemieszczeniu do błony plazmatycznej i poprzez domenę PH oddziałuje z 3,4,5-trifosforanem fosfatidylinozytolu, czego efektem jest zmiana konformacji enzymu, umożliwiająca aktywację kinazy. Aktywacja enzymu Akt wynika z fosforylacji dwu reszt aminokwasów. Dla kinazy Akt1 jest to Thr308 zlokalizowana w domenie środkowej kinazy, fosforylowana przez kinazę PDK1 (*phosphoinositide-dependent kinase 1*, kinaza 1 zależna od fosfoinozyny) oraz Ser473 w C-końcowej domenie regulatorowej, która może ulegać autofosforylacji lub być fosforylowana przez inną kinazę serynową, np. kinazę związaną z integryną (*integrin-linked kinase*, ILK), bądź PDK2 [57].

Aktywny enzym Akt wpływa na wiele procesów zachodzących w komórce, m.in., na proliferację, metabolizm i apoptozę [57]. Kinaza Akt może zapobiegać zaprogramowanej śmierci komórek działając bezpośrednio na czynniki proapoptyczne. Wykazano, że hamuje zmianę konformacji białka Bax i jego przemieszczenie do mitochondrium, co uniemożliwia uwolnienie cytochromu c i aktywację kaskady kaspaz [80]. Kinaza Akt inaktywuje proapoptyczne białko Bad [57]. Ponadto, jak wynika z badań Cardone i wsp. [8] fosforyluje kaspazę-9, co skutkuje osłabieniem jej aktywności.

Antyapoptyczne działanie kinazy Akt związane jest także z regulacją czynników transkrypcyjnych kontrolujących pro- i antyapoptyczne geny. Fosforylacja

czynników transkrypcyjnych AFX, nazywany także FOXO4 (*forkhead box protein O4*), FKHR (*forkhead homolog 1 rhabdomyosarcoma*) i FKHL1 (*forkhead homolog rhabdomyosarcoma like 1*), należących do rodziny Forkhead zapobiega transkrypcji proapoptycznych genów kodujących białka FasL, IGFBP-1 oraz Bim. Z kolei fosforylacja i aktywacja czynnika transkrypcyjnego CREB (*cAMP-response element binding protein*) skutkuje wzrostem ekspresji antyapoptycznych genów *bcl-2* i *mcl-1*. Kinaza Akt może także fosforylować i aktywować kinazę IκB, indukującą degradację IκB, inhibitora czynnika transkrypcyjnego NF-κB. Prowadzi to do aktywacji NF-κB i transkrypcji zależnych od czynnika jądrowego genów kodujących białka Bcl-x_L, inhibitory kaspaz oraz białko c-Myb [57]. Jak wynika z badań Basu i wsp. [2] enzym Akt fosforyluje białko Yap (*Yes-associated protein*) będące koaktywatorem czynnika transkrypcyjnego p73. Ufosforylowanie proteiny Yap powoduje supresję pośredniczonej przez p73 transkrypcji genów kodujących białka proapoptyczne, np. Bax w odpowiedzi na czynniki uszkodzające DNA. Kinaza Akt fosforyluje także białko Mdm2 (*murine double minute-2*) [47], będące ligazą ubikwityny E3 [23]. Proteina Mdm2 powoduje obniżenie komórkowego poziomu białka p53 oraz zmniejszenie jego aktywności transkrypcyjnej [47]. Proteina p53 jest odpowiedzialna za ekspresję białek proapoptycznych, m.in.: Bax [49], Nox a [55] i Puma [52].

Kinaza Akt może zapobiegać apoptozie poprzez regulację metabolizmu komórki. Fosforylacja kinazy 3 syntazy glikogenu (*glycogen synthase kinase 3*, GSK3), enzymu związanego z syntezą glikogenu w odpowiedzi na wysoki poziom insuliny [10] hamuje zaprogramowaną śmierć komórki [58].

Bakterie *C. trachomatis* zapobiegają zaprogramowanej śmierci komórek również za pośrednictwem kinazy fosfatydyloinozytolu PI3K. Jak wynika z badań Verbeke i wsp. [74] w zakażonych komórkach następuje aktywacja kinazy PI3K, która z kolei wpływa na aktywację kinazy białkowej Akt. Aktywny enzym Akt fosforyluje proapoptyczne białko Bad wiążące się poprzez białko adaptorowe 14-3-3β z białkiem IncG znajdującym się w błonie ciała wtrętowego. Odizolowanie białka Bad od mitochondrium zapobiega stymulacji uwalniania cytochromu c. Nie wiadomo, w jaki sposób dochodzi do aktywacji kinazy PI3K w komórkach zakażonych przez *C. trachomatis*. Zdaniem badaczy proces ten może być spowodowany antyapoptycznym czynnikiem wytwarzanym przez bakterie i wydzielanym do cytozolu przez III system sekrecji (*type three secretion system*, TTSS) [74].

Czynnikiem odpowiedzialnym za zahamowanie apoptozy komórek nabłonkowych zakażonych przez *Salmonella Typhimurium* jest białko efektorowe SopB

[32], dostarczane do wnętrza komórki przez III system sekrecji (TTSS) [13]. Białko SopB posiadające aktywność fosfatazy fosfatydyloinozytolu [54] powoduje ciągłą fosforylację i aktywację serynowo-teroninowej kinazy Akt. Ponadto, jak wynika z badań Knodler i wsp. [32] białko SopB zapobiega aktywacji kaspazy-3.

Działanie antyapoptyczne pałeczek *Porphyromonas gingivalis* jest związane z fosforylacją białka Akt przez 3-kinazę fosfatydyloinozytolu (*phosphatidylinositol 3-kinase*, PI3K) [82]. Nie jest znany czynnik aktywujący kinazę PI3K w zakażonych komórkach. Być może jest nim LPS *P. gingivalis* wykazujący działanie antyapoptyczne wobec neutrofilii [51]. LPS tych bakterii wiąże się z receptorem TLR2 [22]. Straussheim i wsp. [66] opisali aktywację PI3K za pośrednictwem receptora TLR2 u neutrofilii.

4. Podsumowanie

Prowadzone w ostatnich latach doświadczenia przyczyniły się do lepszego poznania wpływu bakterii na zakażone komórki. Wykazano, że drobnoustroje mogą zarówno indukować, jak i hamować apoptozę. Bakterie mogą zapobiegać zaprogramowanej śmierci komórek działając bezpośrednio na struktury i enzymy uczestniczące w apoptozie takie, jak: receptory, kaspazy czy mitochondria. Antyapoptyczny wpływ drobnoustrojów może mieć także charakter pośredni i być związany z aktywacją szlaków przekąźnikowych zlokalizowanych wewnątrz zakażonych komórek.

Apoptoza jest procesem mającym istotne znaczenie w patogenezie chorób wywołanych przez bakterie. Jak wynika z przeprowadzonych badań, hamowanie apoptozy umożliwia drobnoustrojom rozmnażanie się w zakażonych komórkach chroniąc je przed działaniem układu odpornościowego.

Mimo znacznego postępu w badaniach nad zaprogramowaną śmiercią komórek wiele mechanizmów antyapoptycznego działania bakterii nie zostało do końca wyjaśnionych, a wiele z nich opiera się w dużym stopniu na hipotezach. Konieczne są dalsze prace badawcze, które umożliwią dokładne poznanie wpływu drobnoustrojów na zakażone komórki oraz pozwolą na opracowanie nowych metod zapobiegania i leczenia chorób wywołanych przez bakterie.

Piśmiennictwo

- Balcewicz-Sablinska M., Keane J., Kornfeld H., Remold H.G.: Pathogenic *Mycobacterium tuberculosis* evades apoptosis of host macrophages by release of TNF-R2, resulting in inactivation of TNF-α. *J. Immunol.* **161**, 2636–2541 (1998)
- Basu S., Totty N.F., Irwin M.S., Sudol M., Downward J.: Akt phosphorylates the Yes-associated protein, YAP, to induce interaction with 14-3-3 and attenuation of p73-mediated apoptosis. *Mol. Cell.* **11**, 11–23 (2003)

3. Beck S.C., Meyer T.F.: IgA1 protease from *Neisseria gonorrhoeae* inhibits TNF α -mediated apoptosis of human monocytic cells. *FEBS Lett.* **472**, 287–292 (2000)
4. Binnicker M.J., Williams R.D., Apicella M.A.: Gonococcal Porin IB activates NF- κ B in human urethral epithelium and increases the expression of host antiapoptotic factors. *Infect. Immun.* **72**, 6408–6417 (2004)
5. Bonizzi G., Karin M.: The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol.* **25**, 280–288 (2004)
6. Böhm I., Schild H.: Apoptosis: the complex scenario for a silent cell death. *Mol. Imag. Biol.* **5**, 2–14 (2003)
7. Cameron P., Bingham D., Paul A., Pavelka M., Cameron S., Rotondo D., Plevin R.: Essential role for verotoxin in sustained stress-activated protein kinase and nuclear factor kappa B signaling, stimulated by *Escherichia coli* O157:H7 in Vero Cells. *Infect. Immun.* **70**, 5370–5380 (2002)
8. Cardone M.H., Roy N., Stennicke H.R., Salvesen G.S., Franke T.F., Stanbridge E., Frisch S., Reed J.C.: Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation. *Science*, **282**, 1318–1321 (1998)
9. Clifton D.R., Rydkina E., Freeman R.S., Sahni S.K.: NF- κ B activation during *Rickettsia rickettsii* infection of endothelial cells involves the activation of catalytic I κ B kinases IKK α and IKK β and phosphorylation-proteolysis of the inhibitor protein I κ B α . *Infect. Immun.* **73**, 155–165 (2005)
10. Cross D.A., Alessi D.R., Cohen P., Andjelkovich M., Hemmings B.A.: Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature*, **378**, 785–789 (1995)
11. Deveraux Q.L., Reed J.C.: IAP family proteins – suppressors of apoptosis. *Genes Dev.* **13**, 239–252 (1999)
12. Dong F., Pirbhai M., Xiao Y., Zhong Y., Wu Y., Zhong G.: Degradation of the proapoptotic proteins Bik, Puma and Bim with Bcl-2 Domain 3 homology in *Chlamydia trachomatis*-infected cells. *Infect. Immun.* **73**, 1861–1864 (2005)
13. Ehrbar K., Mirolid S., Friebel A., Stender S., Hardt W.D.: Characterization of effector proteins translocated via the SPI1 type III secretion system of *Salmonella* Typhimurium. *Int. J. Med. Microbiol.* **291**, 479–485 (2002)
14. Fischer S.F., Schwarz C., Vier J., Häcker G.: Characterization of antiapoptotic activities of *Chlamydia pneumoniae* in human cells. *Infect. Immun.* **69**, 7121–7129 (2001)
15. Fischer S.F., Vier J., Kirschnek S., Klos A., Hess S., Ying S., Häcker G.: *Chlamydia* inhibit host cell apoptosis by degradation of proapoptotic BH3-only proteins. *J. Exp. Med.* **200**, 905–916 (2004)
16. Groesdonk H.V., Schlottmann S., Richter F., Georgieff M., Senftleben U.: *Escherichia coli* prevents phagocytosis-induced death of macrophages via classical NF- κ B signaling, a link to T-cell activation. *Infect. Immun.* **74**, 5989–6000 (2006)
17. Guillemin K., Salama N.R., Tompkins L.S., Falkow S.: Cag pathogenicity island-specific responses of gastric epithelial cells to *Helicobacter pylori* infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 15136–15141 (2002)
18. Häcker G., Fischer S.F.: Bacterial anti-apoptotic activities. *FEMS Microbiol. Lett.* **211**, 1–6 (2002)
19. Hayden M.S., Ghosh S.: Signaling to NF- κ B. *Genes Devel.* **18**, 2195–2224 (2004)
20. Heczko U., Carthy Ch.M., O'Brien B.A., Finlay B.B.: Decreased apoptosis in the ileum and ileal Payer's patches: a feature after infection with rabbit enteropathogenic *Escherichia coli* O130. *Infect. Immun.* **69**, 4580–4589 (2001)
21. Hirata Y., Maeda S., Ohmae T., Shibata W., Yanai A., Ogura K., Yoshida H., Kawale T., Omata M.: *Helicobacter pylori* induces I κ B kinase α nuclear translocation and chemokine production in gastric epithelial cells. *Infect. Immun.* **74**, 1452–1461 (2006)
22. Hirschfeld M., Weis J.J., Toschchakov V., Salkowski C.A., Cody M.J., Ward D.C., Qureshi N., Michalek S.M., Vogel S.N.: Signaling by Toll-Like Receptor 2 and 4 agonists results in differential gene expression in murine macrophages. *Infect. Immun.* **69**, 1477–1482 (2001)
23. Honda R., Tanaka H., Yasuda H.: Oncoprotein Mdm2 is a ubiquitin ligase E3 for tumor suppressor p53. *FEBS Lett.* **420**, 25–27 (1997)
24. Hsu S.Y., Kaipia A., McGee E., Lomeli M., Hsueh A.J.: Bok is a proapoptotic Bcl-2 protein with restricted expression in reproductive tissues and heterodimerizes with selective anti-apoptotic Bcl-2 family members. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 12401–12406 (1997)
25. Jin Z., El-Deiry W.S.: Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol. Ther.* **4**, 139–163 (2005)
26. Joshi S.G., Francis Ch.W., Silverman D.J., Sahni S.K.: NF- κ B activation suppresses host cell apoptosis during *Rickettsia rickettsii* infection via regulatory effects on intracellular localization or levels of apoptogenic and anti-apoptotic proteins. *FEMS Microbiol. Lett.* **234**, 333–341 (2004)
27. Joshi S.G., Francis Ch.W., Silverman D.J., Sahni S.K.: Nuclear Factor- κ B protects against host cell apoptosis during *Rickettsia rickettsii* infection by inhibiting activation of apical and effector caspases and maintaining mitochondrial integrity. *Infect. Immun.* **71**, 4127–4136 (2003)
28. Karin M., Lin A.: NF- κ B at the crossroads of life and death. *Nature Immunol.* **3**, 221–227 (2002)
29. Karst A.M., Li G.: BH3-only proteins in tumorigenesis and malignant melanoma. *Cell. Mol. Life Sci.* **64**, 318–330 (2007)
30. Kempf V.A., Schairer A., Neumann D., Grassi G.A., Lauber K., Lebidziejewski M., Schaller M., Kyme P., Wesselborg S., Autenrieth I.B.: *Bartonella henselae* inhibits apoptosis in Mono Mac 6 cells. *Cell. Microbiol.* **7**, 91–104 (2005)
31. Kim M.K., Seong S.Y., Seoh J.Y., Han T.H., Song H.J., Lee J.E., Shin J.H., Lim B.U., Kang J.S.: *Orientia tsutsugamushi* inhibits apoptosis of macrophages by retarding intracellular calcium release. *Infect. Immun.* **70**, 4692–4696 (2002)
32. Knodler L.A., Finlay B.B., Steele-Mortimer O.: The *Salmonella* effector protein SopB protects epithelial cells from apoptosis by sustained activation of Akt. *J. Biol. Chem.* **280**, 9058–9064 (2005)
33. Koskela P., Anttila T., Björge T., Brunsvig A., Dillner J., Hakama M., Hakulinen T., Jellum E., Lehtinen M., Lenner P., Luostarinen T., Pukkala E., Saikku P., Thoresen S., Youngman L., Paavonen J.: *Chlamydia trachomatis* infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *Int. J. Cancer*, **85**, 35–39 (2000)
34. Krappmann D., Wegener E., Sunami Y., Esen M., Thiel A., Mordmuller B., Scheiderei C.: The I κ B kinase complex and NF- κ B act as master regulators of lipopolysaccharide-induced gene expression and control subordinate activation of AP-1. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 6488–6500 (2004)
35. Li L., Lorenzo P.S., Bogi K., Blumberg P.M., Yuspa S.: Protein kinase C α targets mitochondria, alters mitochondrial membrane potential and induces apoptosis in normal and neoplastic keratinocytes when overexpressed by adenoviral vector. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 8547–8558 (1999)
36. Liles W.C., Thomsen A.R., O'Mahony D.S., Klebanoff S.J.: Stimulation of human neutrophils and monocytes by staphylococcal phenol-soluble modulins. *J. Leukoc. Biol.* **70**, 96–102 (2001)

37. Lin B., Williams-Skipp Ch., Tao Y., Schleicher M.S., Cano L.L., Duke R.C., Scheinman R.I.: NF- κ B functions as both a proapoptotic and antiapoptotic regulatory factor within a single cell type. *Cell Death Differ.* **6**, 570–582 (1999)
38. Liu J., Akahoshi T., Sasahana T., Kitasato H., Namai R., Sasaki T., Inoue M., Kondo H.: Inhibition of neutrophil apoptosis by verotoxin 2 derived from *Escherichia coli* O157:H7. *Infect. Immun.* **67**, 6203–6205 (1999)
39. Lin M.T., Lee R.C., Yang P.C., Ho F.M., Kuo M.L.: Cyclooxygenase-2 inducing Mcl-1-dependent survival mechanism in human lung adenocarcinoma CL1.0 cells. Involvement of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *J. Biol. Chem.* **276**, 48997–49002 (2001)
40. Lotz S., Aga E., Wilde I., Van Zandbergen G., Hartung T., Solbach W., Laskay T.: Highly purified lipoteichoic acid activates neutrophil granulocytes and delays their spontaneous apoptosis via CD14 and TLR2. *J. Leukoc. Biol.* **75**, 467–477 (2004)
41. Łabędzka K., Grzanka A., Izdebska M.: Mitochondrium a śmierć komórki. *Post. Hig. Med. Dośw.* **60**, 439–446 (2006)
42. Maeda S., Yoshida H., Mitsuno Y., Hirata Y., Ogura K., Shiratori Y., Omata M.: Analysis of apoptotic and antiapoptotic signaling pathways induced by *Helicobacter pylori*. *J. Clin. Pathol. Mol. Pathol.* **55**, 286–293 (2002)
43. Majewska M., Szczepanik M.: Rola receptorów toll-podobnych (TLR) w odporności wrodzonej i nabytej oraz ich funkcja w regulacji odpowiedzi immunologicznej. *Post. Hig. Med. Dośw.* **60**, 52–63 (2006)
44. Majumder P.K., Pandey P., Sun X., Cheng K., Datta R., Saxena S., Kharbanda S., Kufe D.: Mitochondrial translocation of protein kinase C α in phorbol ester-induced cytochrome c release and apoptosis. *J. Biol. Chem.* **275**, 21793–21796 (2000)
45. Massari P., Ho Y., Wetzler L.M.: *Neisseria meningitidis* porin PorB interacts with mitochondria and protects cells from apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 9070–9075 (2000)
46. Massari P., King C.A., Ho A.Y., Wetzler L.M.: *Neisserial* PorB is translocated to the mitochondria of HeLa cells infected with *Neisseria meningitidis* and protects cells from apoptosis. *Cell. Microbiol.* **5**, 99–109 (2003)
47. Mayo L.D., Donner D.B.: A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway promotes translocation of Mdm2 from cytoplasm to the nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 11598–11603 (2001)
48. Mehlin C., Headley C.M., Klebanoff S.J.: An inflammatory polypeptide complex from *Staphylococcus epidermidis*: isolation and characterization. *J. Exp. Med.* **189**, 907–918 (1999)
49. Miyashita T., Reed J.C.: Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the the human bax gene. *Cell*, **80**, 293–299 (1995)
50. Moreilhon Ch., Gras D., Hologne C., Bajolet O., Cottrez F., Magnone V., Merten M., Groux H., Puchelle E., Barbry P.: Live *Staphylococcus aureus* and bacterial soluble factors induce different transcriptional responses in human airway cells. *Physiol. Genom.* **20**, 244–255 (2005)
51. Murray D.A., Wilton J.M.A.: Lipopolysaccharide from the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* prevents apoptosis of HL60-derived neutrophils *in vitro*. *Infect. Immun.* **71**, 7232–7235 (2003)
52. Nakano K., Vousden K.H.: Puma, a novel proapoptotic gene is induced by p53. *Mol. Cell.* **7**, 683–694 (2001)
53. Nishihara H., Kizaka-Kondon S., Insel P.A., Eckmann L.: Inhibition of apoptosis in normal and transformed intestinal epithelial cells by cAMP through induction of inhibitor of apoptosis protein (IAP)-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 8921–8926 (2003)
54. Norris F.A., Wilson M.P., Wallis T.S., Galyov E.E., Majerus P.W.: SopB, a protein required for virulence of *Salmonella dublin*, is an inositol phosphate phosphatase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 14057–14059 (1998)
55. Oda E., Ohki R., Murasawa H., Nemoto J., Shibue T., Yamashita T., Tokino T., Taniguchi T., Tanaka N.: Noxa, a BH3-only member of the Bcl-2 family and candidate mediator of p53-induced apoptosis. *Science*, **288**, 1053–1058 (2000)
56. Ohmae T., Hirata Y., Maeda S., Shibata W., Yanai A., Ogura K., Yoshida H., Kawabe T., Omata M.: *Helicobacter pylori* activates NF- κ B via the alternative pathway in B lymphocytes. *J. Immunol.* **175**, 7162–7169 (2005)
57. Osaki M., Oshimura M., Ito H.: PI3K-Akt pathway: its functions and alternations in human cancer. *Apoptosis*, **9**, 667–676 (2004)
58. Pap M., Cooper G.M.: Role of glycogen synthase kinase-3 in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt cell survival pathway. *J. Biol. Chem.* **273**, 19929–19932 (1998)
59. Pirbhai M., Dong F., Zhong Y., Pan K.Z., Zhong G.: The secreted protease factor CPAF is responsible for degrading proapoptotic BH-3-only proteins in *Chlamydia trachomatis*-infected cells. *J. Biol. Chem.* **281**, 31495–31501 (2006)
60. Reynolds J.E., Yang T., Qian L., Jenkinson J.D., Zhou P., Eastman A., Craig R.W.: Mcl-1, a member of Bcl-2 family delays apoptosis induced by c-Myc overexpression in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Res.* **54**, 6348–6352 (1994)
61. Ruland J., Mak T.W.: Transducing signals from antigen receptors to nuclear factor κ B. *Immunol. Rev.* **193**, 93–100 (2003)
62. Rutkowski R., Panacewicz S.A., Skrzydlewska E., Hermanowska-Szpakowicz T.: Właściwości biologiczne czynnika transkrypcji jądrowej NF- κ B. *Alert. Astma Immun.* **10**, 125–131 (2005)
63. Schmid M.C., Scheidegger F., Dehio M., Balmelle-Devau N., Schulein R., Guye P., Chennakesava C.S., Biedermann B., Dehio C.: A translocated bacterial protein protects vascular endothelial cells from apoptosis. *PLoS Pathogens*, **2**, 1083–1097 (2006)
64. Schmid M.C., Schulein R., Dehio M., Denecker G., Carena I., Dehio C.: The VirB type IV secretion system of *Bartonella henselae* mediates invasion, proinflammatory activation and antiapoptotic protection of endothelial cells. *Mol. Microbiol.* **52**, 81–92 (2004)
65. Sladek Z., Rysanek D., Ryznarova H., Faldyna M.: Neutrophil apoptosis during experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis. *Vet. Res.* **36**, 629–643 (2005)
66. Strassheim D., Asehnoune K., Park J.S., Kim J.Y., Hw Q., Richter D., Kuhn K., Mitra S., Abraham E.: Phosphoinositide 3-Kinase and Akt occupy central roles in inflammatory response of Toll-like receptor 2-stimulated neutrophils. *J. Immunol.* **172**, 5727–5733 (2004)
67. Sugiyama T.: Development of gastric cancer associated with *Helicobacter pylori* infection. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **54**, 1: S12–S20 (2004)
68. Sukumaran S.K., Selvaraj S.K., Prasadarao N.V.: Inhibition of apoptosis by *Escherichia coli* K1 is accompanied by increased expression of Bcl_{XL} and blockade mitochondrial cytochrome c release in macrophages. *Infect. Immun.* **72**, 6012–6022 (2004)
69. Thompson C.B.: Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*, **267**, 1456–1462 (1995)
70. Tse S.M., Mason D., Botelho R.J., Chiu B., Reyland M., Hanada K., Inman R.D., Grinstein S.: Accumulation of dia-

- cyloglycerol in the *Chlamydia* inclusion vacuole: possible role in the inhibition of host cell apoptosis. *J. Biol. Chem.* **280**, 25210–25215 (2005)
71. Vander Heiden M.G., Chandel N.S., Li X.X., Schumacker P.T., Colombini M., Thompson C.B.: Outer mitochondrial membrane permeability can regulate coupled respiration and cell survival. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 4666–4671 (2000)
 72. Vander Heiden M.G., Chandel N.S., Schumacker P.T., Thompson C.B.: Bcl-x_L prevents cell death following growth factor withdrawal by facilitating mitochondrial ATP/ADP exchange. *Mol. Cell.* **3**, 159–167 (1999)
 73. Vander Heiden M.G., Li X.X., Gottleib E., Hill R.B., Thompson C.B., Colombini M.: Bcl-x_L promotes the open configuration of the voltage-dependent anion channel and metabolite passage through the outer mitochondrial membrane. *J. Biol. Chem.* **276**, 19414–19419 (2001)
 74. Verbeke P., Welter-Stahl L., Ying S., Hansen J., Häcker G., Darville T., Ojcius D.M.: Recruitment of Bad by the *Chlamydia trachomatis* vacuole correlates with host-cell survival. *PLoS Pathogens*, **2**, 408–417 (2006)
 75. Wahl C., Maier S., Marre R., Essig A.: *Chlamydia pneumoniae* induces the expression of inhibitor of apoptosis 2 (c-IAP2) in human monocytic cell line by an NF-kappaB-dependent pathway. *Int. J. Med. Microbiol.* **293**, 377–381 (2003)
 76. Weinrauch Y., Zychlinsky A.: The induction of apoptosis by bacterial pathogens. *Ann. Rev. Microbiol.* **53**, 155–87 (1999)
 77. Werner A.B., de Vries E., Tait S.W., Bontjer I., Borst J.: Bcl-2 family member Bfl-1/A1 sequesters truncated Bid to inhibit its collaboration with proapoptotic Bak and Bax. *J. Biol. Chem.* **277**, 22781–22788 (2002)
 78. Willis S.N., Chen L., Dewson G., Wei A., Naik A., Flechter J.I., Adams J.M., Huang D.C.S.: Proapoptotic Bak is sequestered by Mcl-1 and Bcl-x_L but not Bcl-2, until displaced by BH3-only proteins. *Genes Devel.* **19**, 1294–1305 (2005)
 79. Xiao Y., Zhong Y., Su H., Zhou Z., Chiao P., Zhong G.: NF-κB activation is not required for *Chlamydia trachomatis* inhibition of host epithelial cell apoptosis. *J. Immunol.* **174**, 1701–1708 (2005)
 80. Yamaguchi H., Wang H.G.: The protein kinase PKB/Akt regulates cell survival and apoptosis by inhibiting Bax conformational change. *Oncogene*, **20**, 7779–86 (2001)
 81. Yanai A., Hirata Y., Mitsuno Y., Maeda S., Shibata W., Akanuma M., Yoshida H., Kawabe T., Omata M.: *Helicobacter pylori* induces antiapoptosis through nuclear factor-κB activation. *J. Infect. Dis.* **188**, 1741–1751 (2003)
 82. Yilmaz O., Jungas T., Verbeke Ph., Ojcius D.M.: Activation of the phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt pathway contributes to survival of primary epithelial cells infected with the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Infect. Immun.* **72**, 3743–3751 (2004)
 83. Ying S., Seiffert B.M., Häcker G., Fischer S.F.: Broad degradation of proapoptotic proteins with the conserved Bcl-2 homology domain 3 during infection with *Chlamydia trachomatis*. *Infect. Immun.* **73**, 1399–1403 (2005)
 84. Zhang J.-Z., Sinha M., Luxon B.A., Yu X.: Survival strategy of obligately intracellular *Ehrlichia chaffeensis*: novel modulation of immune response and host cell cycles. *Infect. Immun.* **72**, 498–507 (2004)
 85. Zhang H., Cowan-Jacob S.W., Simonen M., Greenhalf W., Heim J., Meyhack B.: Structural basis of Bfl-1 for its interaction with Bax and its antiapoptotic action in mammalian and yeast cells. *J. Biol. Chem.* **275**, 11092–11099 (2000)