

Karolina Paulina Gregorczyk^{1*,**}, Zbigniew Wyżewski^{1*}, Lidia Szulc-Dąbrowska¹,
Justyna Struzik^{1*}, Joanna Szczepanowska², Marek Niemiałtowski¹

¹Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

²Pracownia Bioenergetyki i Błon Biologicznych, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie

Wpłynęło w sierpniu 2014 r.

1. Wstęp. 2. Udział mitochondriów w produkcji IFN typu I oraz cytokin prozapalnych. 3. Wirusowe mechanizmy hamowania zależnej od mitochondriów produkcji IFN typu I oraz cytokin prozapalnych. 4. Apoptoza – proces „pseudoprzeciwwirusowy”. 5. Podsumowanie

The role of mitochondria in antiviral immunity

Abstract: Mitochondria, which are known as “powerhouse” of the cell, have numerous important functions in cellular metabolism and are involved in cellular innate antiviral immunity in vertebrates. They participate in an intrinsic pathway of apoptosis and production of proinflammatory cytokines and type I interferons (IFNs; α/β). These functions are essential for limiting the spread of viral infection before the stimulation of adaptive immunity. However, viruses have evolved the ability to escape from the mechanisms of immune response including those related to mitochondrial functions. Viruses can exploit these organelles in their replication cycle and/or morphogenesis process, therefore the answer to the question about the exact role of mitochondria during viral infection is not unequivocal.

1. Introduction. 2. Contribution of mitochondria in type I IFN and pro-inflammatory cytokines production. 3. Viral inhibition mechanisms of the mitochondrial-dependent production of type I IFN and pro-inflammatory cytokines. 4. Apoptosis – “pseudoantiviral” process. 5. Summary

Słowa kluczowe: odporność przeciwwirusowa, mitochondria, apoptoza, MAVS, IFN- α/β

Key words: antiviral immunity, mitochondria, apoptosis, MAVS, IFN- α/β

Wstęp

Mitochondria to wielofunkcyjne organella komórek eukariotycznych oddychających tlenowo. Zbudowane są z dwóch błon białkowo-lipidowych (zewnątrznej i wewnętrznej), oddzielonych przestrzenią międzybłonową. Cechą charakterystyczną mitochondriów jest posiadanie własnego materiału genetycznego w postaci kolistych cząsteczek DNA (mtDNA, mitochondrial DNA). Zarówno masa mitochondriów, stopień pofałdowania ich wewnętrznej błony, a także liczba cząsteczek mtDNA uzależnione są m.in. od rodzaju narządu bądź tkanki [1]. Komórki wykazujące intensywny metabolizm, takie jak np. neurony, miocyty, czy hepatocyty, charakteryzują się obecnością licznych mitochondriów, w odróżnieniu od erytrocytów, które cechuje brak tych organelli [1]. Obecnie wiadomo, że mitochondria to organella niezwykle zróżnicowane i dynamiczne. Tworzą one sieci mitochondrialne, stale ulegające przebudowie, przez co zmienia się ich liczba, morfologia i rozmieszczenie w komórce [10]. Fuzja, czyli łączenie się mitochondriów, oraz ich rozszczepianie związane jest nie tylko z rodzajem komórki, ale także z jej stanem energetycznym oraz działaniem różnych czynników

zewnątrznych, do których zaliczają się patogeny, w tym także wirusy [42]. Zmiany powstałe w sieci mitochondrialnej na drodze zakażenia wirusowego, związane są na ogół z równoczesnym zaburzeniem funkcjonowania tych organelli [6]. Mogą one świadczyć o możliwości „ucieczki” wirusów przed układem odpornościowym gospodarza, jednakże badania wskazują również na sposób wykorzystania przez te patogeny czynności mitochondriów do replikacji lub morfogenezy.

Najważniejszą funkcją mitochondriów jest oddychanie wewnątrzkomórkowe, przez co są one określane jako fabryki bądź centra energetyczne komórek. Dzięki dużej powierzchni błony wewnętrznej, uzyskanej poprzez jej pofałdowanie, możliwe jest bardzo wydajne przeprowadzanie tego procesu, który w wyniku fosforylacji oksydacyjnej dostarcza komórkom energii zmagazynowanej w wiązaniach chemicznych adenozynotrójfosforanu (ATP, adenosine triphosphate). Wirusy nie mają zdolności wytwarzania ATP, niezbędnego w procesie ich replikacji i morfogenezy, dlatego wykorzystują ATP produkowane przez mitochondria. Do innych ważnych funkcji mitochondriów zalicza się m.in. buforowanie jonów wapnia [53], przekazywanie sygnałów [48], udział w cyklu mocznikowym

* Doktoranci dziennego studium doktoranckiego „Ksenobiotyki oraz biologia czynników zakaźnych i inwazyjnych”

** Autor korespondencyjny: Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; e-mail: karolina_gregorczyk@sggw.pl

w komórkach wątroby a także rola w mechanizmach odporności przeciwwirusowej, takich jak apoptoza [55], czy produkcja interferonów (IFN, interferon) typu I oraz cytokin [36]. Ostatnie właściwości tych organelli przyczyniają się do eliminacji wirusa z organizmu oraz ograniczają zasięg zakażenia. Jednakże wirusy w zakażonych komórkach mogą powodować zaburzenia funkcji mitochondriów, prowadząc w rezultacie do hamowania mechanizmów odpornościowych, w które zaangażowane są owe organella.

2. Udział mitochondriów w produkcji IFN typu I oraz cytokin prozapalnych

Układ odpornościowy wykształcił szereg mechanizmów pozwalających na skuteczną walkę z różnorodnymi czynnikami zakaźnymi, takimi jak: bakterie, grzyby, pasożyty, czy wirusy. Podczas zakażenia wirusowego najbardziej efektywne działanie wykazują mechanizmy swoistej odpowiedzi immunologicznej. Zalicza się do nich aktywność cytotoksycznych limfocytów T (CTL, cytotoxic T cell) CD8+ oraz syntezę przez limfocyty B przeciwciał wiążących się z obcymi peptydami i białkami. Niektóre wirusy, np. wirus opryszczki (HHV-1, human herpesvirus type 1 / d. HSV-1, herpes simplex type 1) oraz wirus ektromelii (ECTV, ectromelia virus) stymulują również, oprócz dominujących CTL CD8+, wytwarzanie CTL CD4+ stanowiących około 30% całej puli CTL. Działanie ww. populacji limfocytów skutkuje ochroną komórek przed wniknięciem wirionów lub prowadzi do zniszczenia komórek już zakażonych. Jednakże uruchomienie swoistych mechanizmów odpornościowych wymaga stosunkowo długiego czasu, w przeciwieństwie do mechanizmów odporności wrodzonej, stanowiących pierwszą linię obrony przed wirusami. Nieswoista odpowiedź immunologiczna związana jest z istnieniem na powierzchni i wewnątrz komórek receptorów PRRs (patterns recognition receptors), które mają zdolność rozpoznawania molekularnych wzorców związanych z patogenami PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) [51].

Do PRRs rozpoznających kwasy nukleinowe pochodzenia wirusowego (ssRNA, dsRNA lub DNA) zalicza się receptory RIG-I-podobne (RIG-I – like receptors, RLRs), receptory Toll-podobne (Toll-like receptor, TLR) oraz receptory NOD-podobne (NOD-like receptors, NLR) [29]. Sygnał przekazywany przez RLR i TLR (TLR3, TLR7, TLR8 oraz TLR9) pozwala na zainicjowanie kaskady zdarzeń, prowadzącej do wytworzenia IFN typu I (α/β) oraz cytokin prozapalnych (w zależności od typu komórki: IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α). Natomiast aktywacja NLR prowadzi do wytworzenia dojrzałej IL-1 β [29]. Pobudzenie wymienionych PRRs i wytworzenie IFN typu I i/lub cytokin prozapalnych skutkuje eliminacją wirusa z organizmu [24].

Identyfikacja wirusowego materiału genetycznego przez wewnątrzkomórkowe receptory należące do PRRs jest kluczowym etapem odpowiedzi skierowanej przeciwko tym czynnikom zakaźnym. Mitochondria są bezpośrednio zaangażowane w jeden z etapów odpowiedzi przeciwwirusowej, w którym biorą udział RLR oraz białko DAI (DNA-dependent activator of IFN regulatory factors), należące do grupy PRR.

Do IFN typu I zalicza się IFN- α oraz IFN- β , które wykazują działanie przeciwwirusowe, poprzez bezpośrednie oddziaływanie na komórki docelowe, oraz przejawiają aktywność immunomodulacyjną. IFN- α/β hamuje proliferację komórek zakażonych wirusem [20], a także pobudza szlak sygnałów prowadzących do ekspresji genów kodujących różne białka przeciwwirusowe, których zadaniem jest zahamowanie replikacji wirusa, transkrypcji genów i/lub translacji białek wirusowych [16]. Regulacyjne działanie IFN typu I na układ odpornościowy polega, między innymi, na pobudzeniu różnicowania, dojrzewania i migracji komórek dendrytycznych (DC, dendritic cell) [20] oraz proliferacji komórek NK (natural killer cell) [5], zwiększeniu ekspresji białek MHC klasy I na komórkach zakażonych, a także na inicjowaniu swoistej odpowiedzi immunologicznej [40]. Wskazuje to na szerokie spektrum działania IFN łączące, między innymi, odporność wrodzoną z odpornością nabytą [52].

Podczas odpowiedzi przeciwwirusowej, przy udziale mitochondriów, powstają cytokiny prozapalne: IL-1, IL-2, IL-6, IL-12 oraz TNF- α , a także chemokiny, takie jak: IL-8 (CXCL8), MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1; CCL2), czy RANTES (regulated on activation, normal T-cell-expressed and -secreted; CCL5) [2]. Wytwarzane są one przez wiele typów komórek, głównie przez leukocyty, co związane jest z pełnionymi przez nie funkcjami. Zarówno interferony, jak i cytokiny prozapalne oraz chemokiny, powodują stymulację innych komórek układu odpornościowego do działania, w celu eliminacji czynnika zakaźnego. Pobudzenie syntezy tych białek jest uwarunkowane aktywacją jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (nuclear factor kappa B) [57].

Uwolnienie wirusowego materiału genetycznego do cytoplazmy rozpoczyna serię zdarzeń zachodzących wewnątrz zakażonej komórki, prowadzącą do wytworzenia IFN typu I oraz cytokin prozapalnych. Kaskada działań, angażująca mitochondria, zaczyna się od połączenia specyficznych receptorów wewnątrzkomórkowych z kwasem nukleinowym pochodzenia wirusowego. Zalicza się do nich: białko DAI, które może wiązać się z wirusowym DNA; receptory RLR, w skład których wchodzi białko RIG-I (retinoic acid-inducible gene 1), rozpoznające krótkie cząsteczki dsRNA i ssRNA z trifosforanem na końcu 5' (5'ppp-RNA); oraz MDA-5 (melanoma differentiation-asso-

ciated gene 5), łączące się głównie z długimi cząsteczkami wirusowego dsRNA [50]. Wirusowy dsDNA może także zostać przepisany na cząsteczkę RNA przy udziale polimerazy RNA III zależnej od DNA, w efekcie czego powstaje transkrypt będący ligandem dla RIG-I [11]. Taki mechanizm ma miejsce podczas zakażenia HHV-1 (d. HSV-1), wirusem Epsteina-Barr (EBV, Epstein-Barr virus), adenowirusami oraz wirusem krowianki (VACV, vaccinia virus) [41].

RIG-I jest receptorem wiążącym cząsteczkę 5'ppp-RNA, pochodzącą od paramyksowirusów (wirus choroby Newcastle – NDV, Newcastle disease virus; wirus Sendai – SeV, Sendai virus; wirus syncytium nabłonka oddechowego – RSV, respiratory syncytial virus), rabdowirusów (wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej – VSV, vesicular stomatitis virus; wirus wścieklizny – RABV, rabies virus), ortomyksowirusów (wirus grypy typu A i B – IAV, influenza A virus; IBV, influenza B virus), flawiwirusów (wirus zapalenia wątroby typu C – HCV, hepatitis C virus; wirus japońskiego zapalenia mózgu – JEV, japanese encephalitis virus) oraz filowirusów (wirus Ebola – EBOV, Ebola virus) [41]. MDA-5 stanowi natomiast główny receptor wiążący materiał genetyczny pikornawirusów (wirus zapalenia mózgu – EMCV, encephalomyocarditis virus), koronawirusów (wirus mysiego zapalenia wątroby – MHV, murine hepatitis virus) oraz kaliciwirusów (mysi norowirus – MNV, murine norovirus) [24]. Zarówno RIG-I, jak i MDA-5 mogą rozpoznawać ssRNA flawiwirusów (wirus dengi – DENV, Dengue virus; wirus Zachodniego Nilu – WNV, West Nil virus), a także dsRNA reowirusów (rotawirus) [41].

RIG-I oraz MDA-5 należą do cytozolowych helikaz o aktywności ATPaz. C-końcowa domena regulatorowa RD (regulatory domain) oraz domena helikazowa odpowiadają za wiązanie wirusowego RNA [38], natomiast N-koniec składa się z dwóch tandemowych domen CARD (caspase recruitment domain), łączących się z mitochondrialnym przeciwwirusowym białkiem sygnałowym – MAVS (mitochondrial antiviral signaling protein) [32]. W komórkach niezakażonych receptory RIG-I oraz MDA-5 są nieaktywne. W wyniku przyłączenia wirusowego RNA do wymienionych receptorów, ligazy ubikwityny TRIM25 oraz RIPLET powodują poliubikwitynację RIG-I, co skutkuje uwolnieniem domeny CARD spod hamującego działania domeny RD [61]. Dzięki temu następuje zmiana konformacji receptorów, a w rezultacie ich multimeryzacja, co daje możliwość interakcji z domeną CARD, występującą na mitochondrialnym białku akceptorowym MAVS [24].

Białko MAVS, określane również jako IPS-1 (IFN- β promoter stimulator 1 – białko aktywujące promotor IFN- β 1), Cardif (CARD adapter inducing IFN- β – białko adaptorowe stymulujące syntezę IFN- β , zawierające domenę CARD) lub VISA (virus-induced

signaling adapter – białko adaptorowe VISA), wykazuje budowę domenową, podobnie jak receptory RIG-I oraz MDA-5. Domena transmembranowa (TM) znajduje się na C-końcu MAVS i odpowiada za jego zakotwiczenie w zewnętrznej błonie mitochondrialnej [45]. Wewnątrz łańcucha polipeptydowego znajduje się region bogaty w prolinę (PRR, proline-rich region), którego funkcja polega na przekazywaniu sygnałów poprzez interakcję z czynnikami związanymi z receptorem TNF (TRAF, tumor necrosis factor receptor-associated factor), w tym TRAF2, TRAF3 [44]. Środkowy fragment białka MAVS oddziałuje z białkiem adaptorowym TRADD (tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain protein) oraz TRAF6. Na N-końcu MAVS zlokalizowana jest domena CARD łącząca się z dwiema domenami CARD występującymi na RIG-I lub MDA-5 [45]. Do tej interakcji dochodzi w następstwie związania wirusowego RNA przez wymienione RLR, które aktywują oligomeryzację i agregację białka MAVS [7].

Czynniki TRAF2 i TRAF3 oddziałują z TRADD oraz z białkiem TANK (TRAF-family member associated NF- κ B activator), co skutkuje rekrutacją kinaz TBK1 (TANK-binding kinase 1) oraz IKK ϵ (inducible I κ B kinase) [36]. Dodatkowo na powierzchni mitochondrium znajduje się translokaza błony zewnętrznej 70 – TOM70 (translocase of outer membrane 70), która wchodzi w interakcje z białkiem szoku cieplnego – HSP90 (heat shock protein 90), dzięki czemu odpowiada za lokalizację TBK1 oraz IRF3 (interferon regulatory factor 3) w pobliżu kompleksu białka MAVS [31]. Białko TRAF3 wykazuje aktywność ligazy E3 ubikwityny, przez co ulega ubikwitynacji, powodując aktywację TBK1 oraz IKK ϵ . Wymienione kinazy odpowiadają za fosforylację czynników transkrypcyjnych IRF3 oraz IRF7. W następstwie tego procesu dochodzi do homodimeryzacji i/lub heterodimeryzacji IRF3 i IRF7, które są transportowane do jądra komórkowego, gdzie indukują transkrypcję IFN typu I.

Równocześnie białko adaptorowe TRADD może oddziaływać z FADD (FAS-associated death domain protein) oraz białkiem RIP-1 (receptor-interacting protein 1), które przekazuje sygnały pomiędzy FADD, a kinazą IKK α (I κ B kinase α) i IKK β (I κ B kinase β) [51]. Przytoczone kinazy fosforylują inhibitor czynnika NF- κ B – I κ B α (NF- κ B inhibitor- α), co prowadzi do jego proteosomalnego rozkładu i uwolnienia NF- κ B. Czynniki transkrypcyjne NF- κ B przechodzi do jądra komórkowego, gdzie inicjuje ekspresję genów cytokin prozapalnych [57].

Białko MAVS może wchodzić w interakcję z innymi białkami, które biorą udział w jego pozytywnej bądź negatywnej regulacji. Jednym z nich jest białko STING/MITA (stimulator of interferon genes/mediator of IRF-3 activation), znajdujące się na powierzchni siateczki śródplazmatycznej. W miejscu połączenia

siateczki śródplazmatycznej i mitochondrium tworzy się struktura zwana MAM (mitochondria-associated membrane), która pozwala na wzajemne oddziaływanie MAVS i STING/MITA [8]. Takie połączenie pobudza aktywację zarówno szlaku IRF3, prowadząc do powstania IFN typu I, jak również czynnika NF- κ B, skutkując wytworzeniem cytokin prozapalnych [23]. Dla utrzymania homeostazy w komórkach niezakażonych niezbędna jest negatywna regulacja MAVS. Poznano białka hamujące przekazywanie sygnałów za pośrednictwem MAVS, do których należą: NLRX1 (NOD-like receptor X1 – receptor NOD-podobny X1), znajdujące się na zewnętrznej błonie mitochondrialnej i hamujące interakcje między domenami CARD białka MAVS i receptorów RLR; receptor gC1qR (receptor for the globular head domain of complement C1q – receptor dla białka dopełniacza gC1q), który wiąże się z MAVS, blokując jego aktywację; kinaza PLK1 (Polo-like kinase 1 – Polo-podobna kinaza, 1) hamująca MAVS poprzez wiązanie się z jego domeną C-kończącą; Mfn2 (mitofusin 2 – mitofuzyna 2) w wyniku interakcji z MAVS także zapobiega przekazywaniu sygnałów przez to białko [28, 60].

Dynamika mitochondriów także wpływa na przekazywanie sygnałów ścieżką RLR. Proces fuzji mitochondriów jest zależny od białek znajdujących się na zewnętrznej i wewnętrznej błonie mitochondrialnej [58]. Wspomniana Mfn2, podobnie jak Mfn1 (mitofusin 1 – mitofuzyna 1) jest zlokalizowana na błonie zewnętrznej, w przeciwieństwie do białka Opa1 (optic atrophy 1 – białko 1 zaniku nerwu wzrokowego) umiejscowionego na błonie wewnętrznej. Natomiast proces rozszczepiania związany jest zarówno z białkami znajdującymi się na zewnętrznej błonie mitochondrialnej, takimi jak Fis1 (fission 1 – białko rozszczepiania), Mff (mitochondrial fission factor – czynnik rozszczepiania mitochondriów), a także z białkiem Drp1 (dynamin related protein 1 – białko dynamino-podobne) występującym głównie w cytoplazmie, ale tworzącym również niewielkie skupienia na powierzchni mitochondriów [46, 58]. Badania Yasukawa i wsp. [60] dowodzą wspomnianej już roli Mfn2 w hamowaniu przekazywania sygnałów ścieżką RLR, poprzez wiązanie się z białkiem MAVS. Co ciekawe, nie zauważono tej zależności podczas badania Mfn1, która również wchodzi w interakcje z MAVS [60]. Natomiast okazało się, że łączenie się mitochondriów, związane z obecnością Mfn1 i Opa1, jest niezbędne do aktywacji szlaku RLR [9]. Potwierdzeniem tego było zahamowanie fuzji mitochondriów, poprzez wyciszenie genów dla Mfn1 i Opa1, skutkujące zmniejszeniem aktywacji NF- κ B i IRF3 podczas zakażenia wirusowego [9]. Dodatkowo komórki pozbawione Drp1 i Fis1 charakteryzowały się wydłużoną siecią mitochondrialną i wzrostem przekazywania sygnałów drogą RLR. Udowodniono, że

wydłużona sieć mitochondrialna sprzyja zwiększeniu oddziaływania pomiędzy mitochondriami a siateczką śródplazmatyczną, a konkretnie pomiędzy MAVS i STING/MITA, których połączenie skutkuje aktywacją kolejnych białek ścieżki RLR [9].

Badania z ostatnich lat wskazują na zmiany zachodzące w potencjale wewnętrznej błony mitochondrialnej (ψ_m) oraz produkcji reaktywnych form tlenu (RFT) podczas aktywacji mechanizmów odpornościowych z udziałem mitochondriów [28]. Przytoczone modyfikacje są ściśle związane z procesami prowadzącymi do powstania IFN typu I bądź wywołania apoptozy. Spadek ψ_m zaburza przekazywanie sygnałów na szlaku receptorowym RLR, hamując wytwarzanie IFN- α/β i cytokin prozapalnych, jednocześnie inicjując apoptozę zależną od mitochondriów [28]. Odmienny charakter zmian dotyczy reaktywnych form tlenu. Wzrost poziomu RFT pochodzenia mitochondrialnego, powstających podczas oddychania komórkowego, wzmacnia produkcję IFN typu I oraz cytokin lub powoduje aktywację apoptozy [28]. Na tej podstawie można stwierdzić, że w zależności od otrzymanych sygnałów mitochondria doprowadzają do śmierci pojedynczej, zakażonej komórki, bądź też biorą udział w wytwarzaniu odpowiednich cytokin, w tym IFN. Obydwa procesy odgrywają rolę podczas zakażenia wirusowego, poprzez ograniczenie ekspansji patogenu i jego eliminację z organizmu.

3. Wirusowe mechanizmy hamowania zależnej od mitochondriów produkcji IFN typu I oraz cytokin prozapalnych

Procesy odpornościowe, w które zaangażowane są mitochondria, takie jak produkcja IFN typu I oraz cytokin prozapalnych, mogą być regulowane przez wiele typów wirusów. Patogeny te ewoluowały w kierunku wytworzenia skutecznej obrony przed powstaniem w organizmie gospodarza mechanizmów mogących zakłócić ich rozprzestrzenianie.

Udział mitochondriów w produkcji IFN typu I oraz cytokin prozapalnych jest zależny od szlaku receptorowego RLR, dlatego też wirusy wykształciły szereg mechanizmów hamujących jego aktywację, w celu uniknięcia odpowiedzi immunologicznej. Duże znaczenie odgrywają interakcje z RIG-I, MDA-5 oraz białkiem MAVS, które są kluczowe w przebiegu przesyłania sygnałów skutkujących zwiększeniem ekspresji genów IFN.

Niektóre wirusy, oprócz genów białek zaangażowanych w replikację, zawierają w swoim materiale genetycznym takie fragmenty, które odpowiadają za transkrypcję produktów, biorących udział w unikaniu odpowiedzi immunologicznej. Do wirusowych białek blokujących przesyłanie sygnałów, prowadzących do zwiększenia ilości IFN typu I oraz cytokin prozapalnych zalicza się:

- a) proteazę serynową NS3/4A wirusa zapalenia wątroby (wzw) typu C, powodującą rozszczepianie MAVS, uniemożliwiając jego aktywację [36];
- b) proteazę serynową 3ABC wirusa zapalenia wątroby typu A (HAV, hepatitis A virus), której działanie jest zbliżone do NS3/4A, a różnica wynika głównie z miejsca cięcia łańcucha polipeptydowego MAVS [36];
- c) białko HBX (hepatitis B virus protein X – białko X wirusa zapalenia wątroby typu B) wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV – hepatitis B virus), które hamuje produkcję IFN typu I i cytokin pozapalnych; powoduje ubikwitynację MAVS, a tym samym jego proteasomalną degradację, uniemożliwiającą dalsze przekazywanie sygnału [28];
- d) proteazę 3C pikornawirusów, prowadzącą do degradacji receptorów MDA-5 oraz RIG-I [4];
- e) białko NS1 (non-structural protein 1) wirusa grypy typu A (IAV, influenza type A virus), która odpowiada za unikanie odpowiedzi immunologicznej, poprzez interakcje z receptorem RIG-I [30];
- f) białko V paramyksowirusów, wiążące się z receptorem MDA-5 [51];
- g) białko E3L wirusa krowianki, hamujące ekspresję genów dla IFN- α/β poprzez inhibicję aktywacji czynników IRF-3/7;
- h) białko VP35 wirusa Ebola, g34.5 kodowane przez HHV-1 (d. HSV-1), białko P wirusa wścieklizny oraz G1 hantawirusa, zabezpieczające przed fosforylacją IRF-3/7 zależną od kinazy IKK ϵ i TBK-1 [22, 30].

W przypadku pikornawirusów możliwe jest kowalencyjne przyłączenie do ich genomu wirusowego białka VPg, co zapobiega związaniu przez receptor RIG-I [4]. Podobne właściwości cechują inne białka wirusowe, które mają zdolność do interakcji z dsRNA, dzięki czemu uniemożliwiają połączenie wirusowego RNA z receptorem MDA-5 bądź RIG-I. Takie oddziaływanie dotyczy wymienianych wcześniej białek E3 VACV oraz VP35 wirusa Ebola, a także TRS1 i m142/m143 kodowanych przez ludzkiego cytomegalowirusa (cytomegalovirus, CMV) [4]. Przykłady różnorodności działania białek wirusowych na zahamowanie produkcji IFN typu I oraz cytokin prozapalnych zostały przedstawione na Rys. 1.

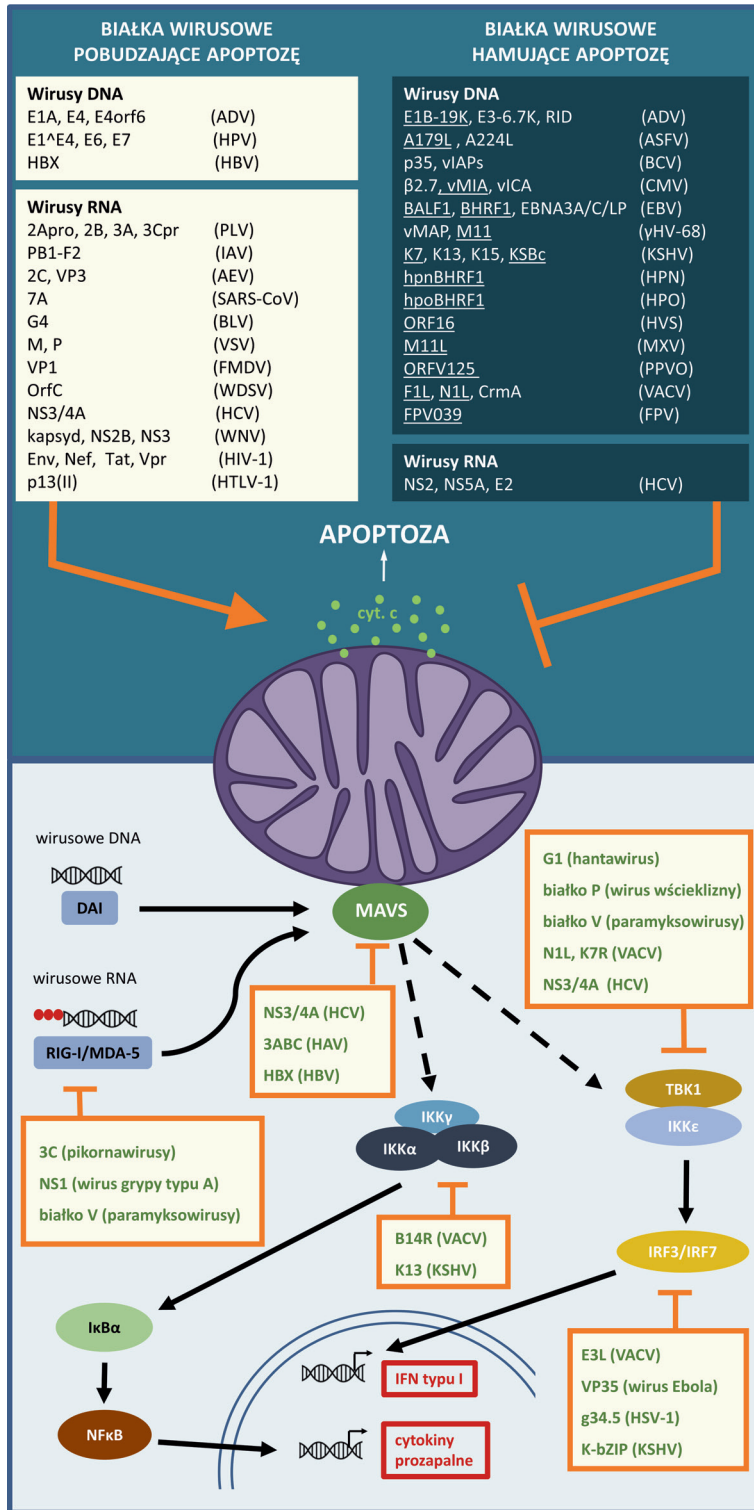
Niektóre wirusy, takie jak CMV oraz alfahepeswirusy (HHV-1, PRV – pseudorabies virus – wirus wścieklizny rzekomej) wpływają również na zmiany morfologii sieci mitochondrialnej [3, 29, 34]. Co ciekawe, właśnie przeciwko niej skierowane jest jedno z białek proapoptycznych CMV, o nazwie vMIA (viral mitochondrion-localized inhibitor of apoptosis – wirusowy inhibitor apoptozy lokalizujący się na mitochondriach) [3, 34]. Powoduje ono fragmentację sieci mitochondrialnej, utrudniając tym samym przekazywanie sygnałów przy udziale MAVS.

4. Apoptoza – proces „pseudoprzeciwwirusowy”

Apoptoza stanowi rodzaj programowanej śmierci komórki (programmed cell death, PCD), który jest procesem fizjologicznym i ściśle kontrolowanym [12, 39]. Angażuje on wiele białek i organelli komórkowych, ze szczególnym uwzględnieniem mitochondriów, które odgrywają w nim istotną rolę. Biorą one udział zarówno w szlaku wewnętrznym (mitochondrialnym) apoptozy, gdzie są bezpośrednim odbiorcą proapoptycznych sygnałów z wnętrza komórki, jak i zewnętrznym (receptorowym), w którym pośredniczą w przekazywaniu sygnałów śmierci pochodzących spoza komórki, odbieranych za pośrednictwem receptorów na jej powierzchni [17].

Celem apoptozy jest utrzymanie homeostazy w tkankach, poprzez usuwanie komórek zbędnych lub uszkodzonych, powstałych w trakcie normalnego rozwoju organizmu lub podczas jego starzenia [12]. Dodatkowo, aktywacja apoptozy może zachodzić również w warunkach patologicznych, takich jak narażenie na szkodliwe promieniowanie, zatrucie toksynami, hipoksja, hipertermia, obecność wolnych rodników czy też podczas stosowania niektórych leków (np. przeciwnowotworowych, hormonalnych) [12]. W tych przypadkach apoptoza również przyczynia się do przywrócenia stanu równowagi w organizmie, bez wywołania zmian zapalnych i nacieku komórek układu odpornościowego. Jest to niezmiernie istotne podczas usuwania pojedynczych, zmienionych komórek, ponieważ zapobiega powstawaniu rozległych uszkodzeń w danej tkance. Istnieją jednak sytuacje, w których dochodzi do zaburzeń w przebiegu apoptozy, doprowadzających do różnych dysfunkcji komórkowych, narządowych, czy też układowych. Nieprawidłowości w regulacji apoptozy stanowią ważną składową zespołu nabytego niedoboru odporności (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS), wad rozwojowych, chorób autoimmunologicznych (autoimmunizacyjny zespół limfoproliferacyjny), nowotworowych (rak), czy też neurodegeneracyjnych (np. choroba Parkinsona, choroba Alzheimera, choroba Huntingtona, stwardnienie zanikowe boczne) [12].

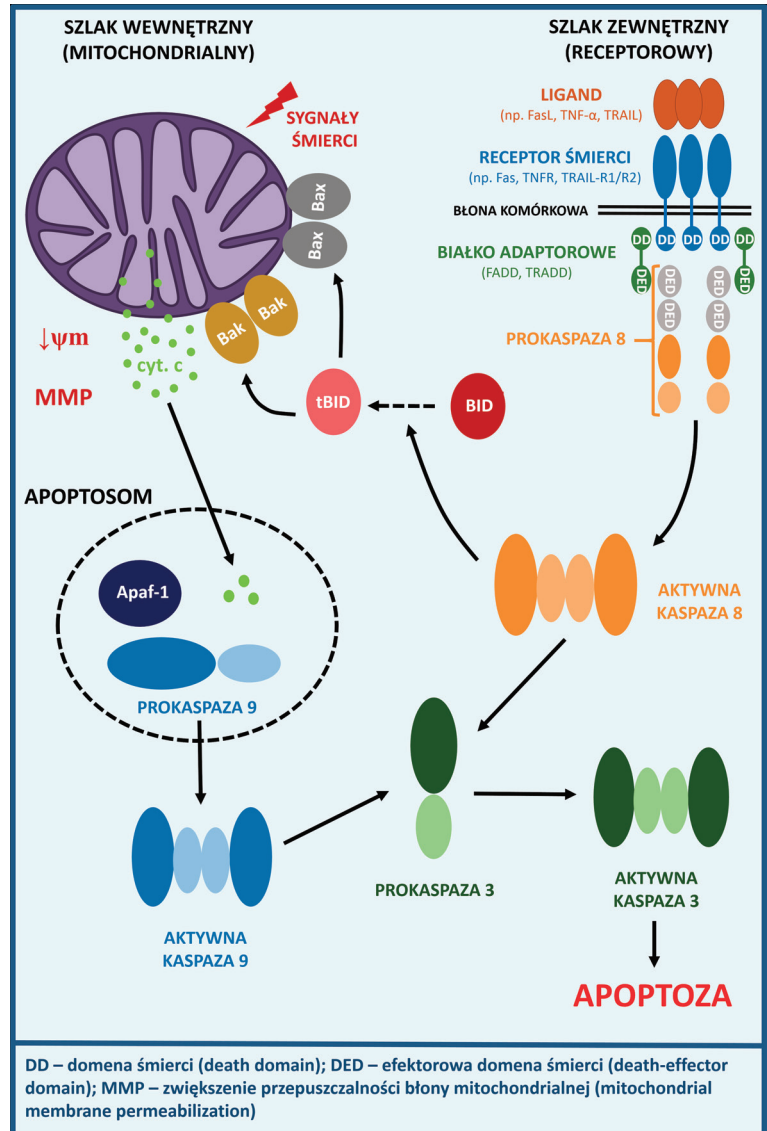
Do apoptozy dochodzi również w przebiegu zakażeń wirusowych, co stanowi oddzielny temat do rozważań w niniejszej pracy. Usuwanie zakażonych komórek na drodze apoptozy jest uznawane za fundamentalny element odporności przeciwwirusowej [14], jednak rzeczywisty udział programowanej śmierci komórki w ograniczaniu rozprzestrzeniania zakażenia jest kontrowersyjny. Często apoptoza nie tylko nie eliminuje zakażonych komórek, ale dodatkowo potęguje ekspansję wirusa w organizmie, wykazując tym samym działanie prowirusowe. Jest to związane z koewolucją wirusów i mechanizmów odpornościowych gospodarza,



Rys. 1. Kontrola procesu apoptozy oraz hamowanie produkcji IFN typu I i cytokin prozapalnych przez białka wirusowe. Opis w tekście

skutkującą wytworzeniem przez te czynniki zakaźne zdolności unikania odpowiedzi immunologicznej [14]. Wirusowy materiał genetyczny koduje białka pro- i/lub antyapoptotycznych, które kontrolują proces śmierci komórkowej, w zależności od potrzeb patogenu. Wirusy szybko replikujące (większość wirusów RNA) wymagają krótkiego czasu na powielenie swojego materiału genetycznego i złożenie kompletnych wirionów, dlatego też uzyskały zdolność do aktywacji procesu apoptozy,

przyspieszając tym samym rozprzestrzenianie zakażenia, dodatkowo nie wywołując rozwoju odpowiedzi zapalnej. Jest to działanie przeciwstawne do tego, jaki prezentują wirusy, których replikacja ma długotrwały przebieg (większość wirusów DNA), całkowicie uzależniony od długości życia komórki [35]. Potrzebują one znacznie więcej czasu na powielenie materiału genetycznego i morfogenezę, dlatego kodują białka hamujące apoptozę, a tym samym wydłużają życie zaka-



Rys. 2. Schemat przebiegu wewnętrznego i zewnętrznego szlaku apoptozy. Opis w tekście

zonych komórek. Zwiększa to szanse tych wirusów na rozprzestrzenienie i zakażenie kolejnych organizmów.

Ze względu na szczególny udział mitochondriów w procesie apoptozy, to właśnie one stanowią główny punkt docelowy działania białek wirusowych, kontrolujących śmierć zakażonej komórki. Produkty genów wirusowych niemalże na każdym etapie apoptozy regulują jej przebieg, dlatego też poniżej zostaną przedstawione szlaki sygnałowe doprowadzające do śmierci komórkowej na drodze tego procesu (Rys. 2).

Znane są dwa główne szlaki apoptozy, w które zaangażowane są mitochondria – szlak wewnętrzny (mitochondrialny) oraz szlak zewnętrzny (receptorowy). Mitochondrialny szlak apoptozy może być aktywowany różnymi czynnikami, takimi jak uszkodzenia DNA, wzrost stężenia Ca^{2+} w cytoplazmie, podwyższenie poziomu reaktywnych form tlenu oraz stres oksydacyjny. Podczas zakażenia wirusowego również może dochodzić do zmian w komórce, prowadzących do przerwania ciągłości błony mitochondrialnej, co

w konsekwencji skutkuje aktywacją apoptozy [36]. Bezpośrednim sygnałem do zainicjowania wewnętrznego szlaku apoptozy jest zwiększenie przepuszczalności błony mitochondrialnej (mitochondrial membrane permeabilization, MMP), w której biorą udział kanały MAC (mitochondrial apoptosis-induced channel) i MPTP (mitochondrial permeability transition pore) oraz obniżenie potencjału błonowego mitochondrium, co prowadzi do uwolnienia ponad 40 białek z przestrzeni międzybłonowej do cytoplazmy [56]. Do tych białek zalicza się głównie cytochrom c, drugi mitochondrialny aktywator kaspaz Smac/DIABLO (second mitochondrial activator of caspases/direct IAP binding protein with PI), proteazę serynową Omi/HtrA2 (high-temperature requirement serin protease A2), czynnik indukcji apoptozy AIF (apoptosis-inducing factor) oraz endonukleazę G [36]. Powyższe białka mają działanie proapoptotyczne, jednakże kluczowe dla procesu apoptozy jest uwolnienie cytochromu c do cytoplazmy, który łączy się następnie z czynnikiem Apaf-1,

zmieniając jego konformację. Powoduje to odsłonięcie miejsc wiązania dATP w białku Apaf-1, umożliwiając tym samym przyłączenie dATP, co indukuje oligomeryzację siedmiu cząsteczek Apaf-1 za pośrednictwem domen CARD na ich N-końcach. Kolejnym zdarzeniem jest związanie siedmiu cząsteczek prokaspazy 9 z Apaf-1, tworząc ostatecznie kompleks zwany apoptosomem. Dzięki takiemu połączeniu, prokaspaza 9 zostaje autokatalitycznie przekształcona do kaspazy 9, co skutkuje aktywacją kaspaz wykonawczych (kaspazy 3 i 7), odpowiedzialnych za charakterystyczne zmiany w komórce, prowadzące ostatecznie do jej śmierci [36].

Drugim omawianym rodzajem apoptozy jest szlak zewnętrzny, w którym sygnały śmierci pochodzą spoza komórki i są odbierane za pośrednictwem receptorów na jej powierzchni, takich jak Fas, TNFR (TNF-receptor) lub TRAIL-R1/R2 (TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor 1/2). Połączenie receptora z ligandem, odpowiednio Fas – FasL, TNFR – TNF- α , TRAIL-R1/R2 – TRAIL, doprowadza do przekształcenia prokaspazy 8 w aktywną kaspazę 8, która odpowiada za aktywowanie kaspaz efektorowych, podobnie jak kaspaza 9 w szlaku wewnętrznym [39]. Na tym etapie drogi tych dwóch szlaków się krzyżują. Elementem łączącym obydwa rodzaje apoptotycznej śmierci komórki jest białko Bid (BH3 interacting domain), którego proteolityczne cięcie przez kaspazę 8 prowadzi do uwolnienia fragmentu tBid (truncated Bid) [27]. Powstała w ten sposób cząsteczka tBid przyłącza się do białka Bax lub Bak, znajdujących się na powierzchni mitochondriów, doprowadzając tym samym do zwiększenia przepuszczalności błony tych organelli i rozpoczęcia mechanizmu wewnętrznego szlaku apoptozy [27]. Przeprowadzone badania wykazały też, że tBid może samoistnie, bez udziału innych białek, powodować perforację błon mitochondrialnych w miejscu styku między błoną zewnętrzną a wewnętrzną [33].

Wirusy wykształciły zdolność manipulowania apoptozą między innymi poprzez oddziaływanie z białkami, odpowiadającymi za jej kontrolę. Dobrze poznanymi regulatorami mitochondrialnego szlaku apoptozy są białka z rodziny Bcl-2, do której zalicza się zarówno inhibitory (np. Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w), jak i aktywatory (np. Bid, Bax, Bad, Bak) tego procesu. Zbudowane są z czterech domen BH (Bcl-2 homology): BH1, BH2, BH3 oraz BH4, na podstawie których wyróżniono 3 grupy tych białek. Do pierwszej zalicza się inhibitory apoptozy, zawierające prawie zawsze wszystkie 4 domeny; do drugiej grupy należą białka proapoptotyczne, pozbawione domeny BH4, natomiast trzecia grupa również zawiera aktywatory apoptozy, jednakże charakteryzujące się posiadaniem tylko domeny BH3 [43]. Większość białek należących do rodziny Bcl-2 cechuje się obecnością domeny transbłonowej na hydrofobowym C-końcu łańcucha polipeptydowego,

umożliwiającej im zakotwiczenie w błonach wewnątrzkomórkowych, m.in. w zewnętrznej błonie mitochondrialnej [43]. Białka pozbawione takiego fragmentu (np. Bad, Bid), mogą przemieszczać się w cytoplazmie i komunikować się z innymi białkami, zapewniając przez to przesyłanie sygnałów wewnątrz komórki [43].

Antyapoptotyczne białka z rodziny Bcl-2 chronią komórkę przed wieloma sygnałami apoptotycznymi, przez co zwiększają jej szanse na przeżycie [18]. Wpływają one na regulację integralności zewnętrznej błony mitochondrialnej MOM (mitochondrial outer membrane), jednakże mechanizm ich działania nie jest do końca poznany [54]. Prawdopodobnie odpowiadają za hamowanie aktywności Bax poprzez wiązanie tego białka, zapobiegając tym samym jego oligomeryzacji i rozpoczęciu apoptozy [13]. Inne badania wykazały, że białko Bcl-2 może wiązać się z białkami proapoptotycznymi, mającymi jedynie domenę BH3 [54].

W warunkach fizjologicznych obserwuje się nadmiar białek antyapoptotycznych (np. Bcl-2) w stosunku do proapoptotycznych (np. Bax, Bak), co hamuje proces apoptozy [37]. Natomiast podczas stanów patologicznych może dojść do aktywacji białka p53, które pobudza ekspresję genów dla białek proapoptotycznych, a tym samym zwiększa ich poziom. Białko Bax zostaje aktywowane i transportowane do MOM, podczas gdy Bak w normalnych warunkach pozostaje związane z zewnętrzną błoną mitochondrialną, jednak ulega aktywacji dopiero po stymulacji przez odpowiednie czynniki. Zwiększony poziom ekspresji Bax i Bak oraz ich aktywacja pobudza wewnętrzny szlak apoptozy w wyniku wytworzenia mitochondrialnych kanałów MAC indukujących apoptozę [37]. MAC umożliwiają wydostanie się białek (głównie cytochromu c) do cytoplazmy z przestrzeni międzybłonowej [37].

Znanych jest wiele przykładów białek wirusowych pobudzających apoptozę na poziomie regulacji tego procesu. Mogą one powodować wzrost poziomu białek proapoptotycznych bądź obniżać ilość i/lub aktywność czynników antyapoptotycznych. Przykładem są białka różnych typów wirusów, takich jak:

- a) 2Apro, 2B, 3A, 3Cpro wirusa polio (PLV, poliovirus), powodujące aktywację Bax;
- b) E1A, E4orf6 adenowirusa (ADV, adenovirus), zwiększające ekspresję proapoptotycznych białek posiadających jedynie domenę BH3;
- c) VP1 wirusa pryszczycy (FMDV, foot and mouth disease virus), redukujące poziom Bcl-2;
- d) EnV, Nef i proteaza kodowana przez HIV-1, obniżające ilość antyapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2 [14].

Kolejnym mechanizmem działania wirusowych białek proapoptotycznych jest aktywowanie kaspaz. Do takich wirusowych białek zalicza się np. 2C i VP wirusa zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego ptaków (AEV, avian encephalitis virus), Env i proteaza wirusa

zespołu nabytego niedoboru odporności typu 1 (HIV-1, human immunodeficiency virus), NS3 wirusa zapalenia wątroby typu C, białko M wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (vesicular stomatitis virus, VSV) oraz białka kapsydu NS2B/NS3 wirusa Zachodniego Nilu [14].

Rolą mitochondriów jest aktywacja procesu apoptozy w odpowiedzi na zmiany zachodzące w komórce, wywołane m.in. obecnością wirusa. W zakażeniach powyższymi wirusami kodującymi białka proapoptotyczne proces śmierci komórkowej jest działaniem pożądanym, umożliwiającym szerzenie się zakażenia. Tym samym apoptoza związana z funkcjami mitochondriów pełni funkcje prowirusowe. Podobnie jest w przypadku wirusów (np. HBV, HCV, HIV-1, HTLV-1 [human T-lymphotropic virus], PLV, WNV) wykazujących zdolność do pobudzania uwalniania cytochromu c do cytoplazmy oraz obniżania potencjału mitochondrialnego za pośrednictwem swoich białek, co również skutkuje aktywacją apoptozy [14]. Obecność wirusa w komórce spowodowałaby zmiany prowadzące ostatecznie do uruchomienia wewnętrznego szlaku apoptozy, bez względu na obecność wirusowych aktywatorów śmierci. Apoptoza będąca potencjalnym elementem ochrony przeciwwirusowej, w tym przypadku również stanowi działanie propagujące zakażenie, a wirusowe mechanizmy proapoptotyczne jedynie przyspieszają zajście tego procesu.

Przeciwną, czyli przeciwwirusową rolę apoptozy, a tym samym mitochondriów obserwuje się w zakażeniach wirusami blokującymi śmierć komórki. Mogą one zawierać w swoim materiale genetycznym geny dla produktów o podobnej budowie lub funkcjach do białek z rodziny Bcl-2, przez co mają zdolność hamowania procesu apoptozy [14]. Białka wirusowe, będące homologami białek z rodziny Bcl-2 (v-Bcl-2) zostały umieszczone na Rys. 1 (podkreślone). Kolejnym mechanizmem blokowania przebiegu apoptozy przez produkty genów wirusowych jest obniżenie poziomu białek proapoptotycznych jak, na przykład Bim przez białka EBNA3A i EBNA3C kodowanych przez wirusa Epsteina-Barr [14]. Wymienione przykłady antyapoptotycznego działania białek wirusowych wskazują na potencjalnie przeciwwirusową rolę apoptozy z udziałem mitochondriów. Powyższe wirusy potrzebują dłuższego czasu na przeprowadzenie procesu replikacji i morfogenezy. Apoptoza, która zostałaby prawdopodobnie wywołana na skutek zmian spowodowanych obecnością wirusa, doprowadziłaby do ograniczenia rozprzestrzeniania zakażenia. Jednakże hamowanie tego procesu przez wirusowe białka antyapoptotyczne, ostatecznie skutkuje brakiem właściwej przeciwwirusowej reakcji mitochondriów i w efekcie propaguje zakażenie.

Inne białka wirusowe związane z zahamowaniem apoptozy mogą pełnić funkcje inhibitorów kaspaz, do

których zaliczamy m.in. A224L i p35 wirusa afrykańskiego pomoru świń (ASFV, African swine fever virus), vIAP bakulowirusa (BCV, baculovirus), U236 (vICA) ludzkiego CMV oraz CvmA VACV [14]. W tym przypadku mitochondria pełnią realne funkcje przeciwwirusowe, ponieważ inicjują zajście apoptozy. Dopiero hamowanie aktywacji kaspaz przez białka wirusowe, czyli etapu niezależnego od mitochondriów, skutkuje inhibicją tego procesu, doprowadzając ostatecznie do ekspansji zakażenia.

Co ciekawe, niektóre z wirusów wykazują jednocześnie zdolność do indukowania, jak i hamowania apoptozy. Prawdopodobnie jest to uzależnione od potrzeb wirusa na danym etapie zakażenia. Taki mechanizm działania jest charakterystyczny dla herpeswirusów, które regulują śmierć komórek gospodarza, w zależności od tego, czy ich celem jest przejście w stan latencji, czy też zakażenie kolejnych komórek [35]. Główną ochronę przed apoptozą podczas latencji HHV-1/2 odgrywa gen LAT, który odpowiada za hamowanie proapoptotycznego Bcl-XS, a w efekcie za nasilenie splicingu Bcl-X w kierunku antyapoptotycznego Bcl-XL [35].

5. Podsumowanie

Mitochondria odgrywają znaczącą rolę w odporności przeciwwirusowej. Pośredniczą w produkcji IFN typu I oraz cytokin prozapalnych, a także uczestniczą w apoptozie. Wymienione procesy mają na celu zahamowanie replikacji wirusa oraz transkrypcji genów i translacji jego białek, a w konsekwencji eliminację patogenu z organizmu. Jednakże w procesie ewolucji wirusy wykształciły mechanizmy unikania odpowiedzi przeciwwirusowej gospodarza, również tej związanej z czynnościami mitochondriów. Przykładem takiego działania są białka wirusowe mogące hamować produkcję IFN typu I i cytokin prozapalnych na różnych jej etapach, co zabezpiecza patogen przed aktywacją układu odpornościowego. Dodatkowo, niektóre wirusy kodują białka hamujące wewnętrzny proces apoptozy, który ma na celu ochronę organizmu przed rozprzestrzenianiem się zakażenia. Apoptoza i aktywujące ją mitochondria pełnią w tym przypadku rolę „pseudo-przeciwwirusową”, ponieważ co prawda pobudzenie śmierci komórkowej ograniczyłoby ekspansję wirusa w organizmie, to jednak hamowanie tego procesu przez wirusy, skutkuje jego nieprzydatnością w walce z patogenem. Z drugiej strony apoptoza może nie tylko nie zabezpieczać przed zakażeniem, ale dodatkowo wykazywać działanie prowirusowe. Takie działanie obserwuje się podczas zakażenia wirusami aktywującymi ten proces. Wykorzystują one apoptozę, a tym samym mitochondria, do propagowania zakażenia i ekspansji patogenu w organizmie. W tym przypadku apoptoza

ułatwia uwolnienie potomnych cząstek wirusowych, które są w stanie zakażać kolejne komórki, doprowadzając do rozwoju choroby. Powyższe przykłady wskazują, że rzeczywista rola apoptozy z udziałem mitochondriów w odporności przeciwwirusowej jest jedynie teoretyczna.

Praca została sfinansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki w Krakowie numer UMO-2011/03/B/NZ6/03856

Piśmiennictwo

- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P.: *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition. Garland Publishing Inc. New York (2002)
- Allen I. C., Ting J. P., wsp.: NLRX1 protein attenuates inflammatory responses to infection by interfering with the RIG-I-MAVS and TRAF6-NF- κ B signaling pathways. *Immunity*, **34**, 854–865 (2011)
- Arnoult D.I., Bartle L.M., Skaletskaya A., Poncet D., Zamzami N., Park P.U., Sharpe J., Youle R.J., Goldmacher V.S.: Cytomegalovirus cell death suppressor vMIA blocks Bax- but not Bak-mediated apoptosis by binding and sequestering Bax at mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 7988–7993 (2004)
- Barral P.M., Sarkar D., Su Z.Z., Barber G.N., De Salle R., Racaniello V.R., Fisher P.B.: Functions of the cytoplasmic RNA sensors RIG-I and MDA-5: key regulators of innate immunity. *Pharmacol. Ther.* **124**, 219–234 (2009)
- Biron C.A., Nguyen K.B., Pien G.C., Cousens L.P., Salazar-Mather T.P.: Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu. Rev. Immunol.* **17**, 189–220 (1999)
- Boya P., Pauleau A.L., Poncet D., Gonzalez-Polo R.A., Zamzami N., Kroemer G.: Viral proteins targeting mitochondria: Controlling cell death. *Biochim. Biophys.* **1659**, 178–189 (2004)
- Caamaño J., Hunter C.A.: NF- κ B family of transcription factors: central regulators of innate and adaptive immune functions. *Clin. Microbiol. Rev.* **15**, 414–429 (2002)
- Castanier C., Zemirli N., Portier A., Garcin D., Bidère N., Vazquez A., Arnoult D.: MAVS ubiquitination by the E3 ligase TRIM25 and degradation by the proteasome is involved in type I interferon production after activation of the antiviral RIG-I-like receptors. *BMC Biol.* **10**, 44 (2012)
- Castanier C., Garcin D., Vazquez A., Arnoult D.: Mitochondrial dynamics regulate the RIG-I-like receptor antiviral pathway. *EMBO Rep.* **11**, 133–138 (2010)
- Chan D.C.: Mitochondrial fusion and fission in mammals. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **22**, 79–99 (2006)
- Chiu Y.H., Macmillan J.B., Chen Z.J.: RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type I interferons through the RIG-I pathway. *Cell*, **138**, 576–591 (2009)
- Elmore S.: Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol. Pathol.* **35**, 495–516 (2007)
- Fletcher J.I., Meusburger S., Hawkins C.J., Riglar D.T., Lee E.F., Fairlie W.D., Huang D.C.S., Adams J.M.: Apoptosis is triggered when pro-survival Bcl-2 proteins cannot restrain Bax. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 18081–18087 (2008)
- Galluzzi L., Brenner C., Morselli E., Touat Z., Kroemer G.: Viral Control of Mitochondrial Apoptosis. *PLoS Pathog.* **4**, e1000018 (2008)
- Génin P., Algarté M., Roof P., Lin R., Hiscott J.: Regulation of RANTES chemokine gene expression requires cooperativity between NF- κ B and IFN-regulatory factor transcription factors. *J. Immunol.* **164**, 5352–5361 (2000)
- Goodbourn S., Didcock L., Randall R.E.: Interferons: cell signaling, immune modulation, antiviral response and virus countermeasures. *J. Gen. Virol.* **81**, 2341–2364 (2000)
- Guicciardi M.E., Gores G.J.: Life and death by death receptors. *FASEB J.* **23**, 1625–1637 (2011)
- Gustafsson A.B., Gottlieb R.A.: Bcl-2 family members and apoptosis, taken to heart. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **292**, C45–51 (2007)
- Henze K., Martin W.: Evolutionary biology: essence of mitochondria. *Nature*, **426**, 127–128 (2003)
- Hervas-Stubbs S., Perez-Gracia J.L., Rouzaut A., Sanmamed M.F., Le Bon A., Melero I.: Direct effects of type I interferons on cells of the immune system. *Clin. Cancer Res.* **17**, 2619–2627 (2011)
- Hordyjewska A., Pasternak K.: Apoptotyczna śmierć komórki. *Adv. Clin. Exp. Med.* **14**, 545–554 (2005)
- Irving A., Williams B.R.: Latest advances in innate antiviral defence. *F1000 Biol. Rep.* **17**, 1–22 (2009)
- Ishikawa H., Barber G.N.: STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature*, **455**, 674–678 (2008)
- Kato H., Akira S. i wsp.: Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature*, **441**, 101–105 (2006)
- Kawai T., Akira S.: Toll-like receptor and RIG-I-like receptor signaling. *Ann. NY Acad. Sci.* **1143**, 1–20 (2008)
- Kawai T., Takahashi K., Sato S., Coban C., Kumar H., Kato H., Ishii K.J., Takeuchi O., Akira S.: IP S-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nat. Immunol.* **6**, 981–988 (2005)
- Każmierczuk A., Kiliańska Z.M.: Role of heat shock proteins in cell apoptosis. *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)*, **64**, 273–283 (2010)
- Koshiha T.: Mitochondrial-mediated antiviral immunity. *Biochim. Biophys. Acta*, **1833**, 225–232 (2013)
- Kramer T., Enquist L.W.: Alphaherpesvirus infection disrupts mitochondrial transport in neurons. *Cell Host. Microbe*. **11**, 504–514 (2012)
- Leung D.W., Basler C.F., Amarasinghe G.K.: Molecular mechanisms of viral inhibitors of RIG-I-like receptors. *Trends Microbiol.* **20**, 139–146 (2012)
- Liu X.Y., Wei B., Shi H.X., Shan Y.F., Wang C.: Tom70 mediates activation of interferon regulatory factor 3 on mitochondria. *Cell Res.* **20**, 994–1011 (2010)
- Loo Y.M., Gale Jr. M.: Immune signaling by RIG-I-like receptors. *Immunity*, **34**, 680–692 (2011)
- Lutter M., Perkins G.A., Wang X.: The pro-apoptotic Bcl-2 family member tBid localizes to mitochondrial contact sites. *BMC Cell Biol.* **2**, 22 (2001)
- McCormick A.L., Smith V.L., Chow D., Mocarski E.S.: Disruption of mitochondrial networks by the human cytomegalovirus UL37 gene product viral mitochondrion-localized inhibitor of apoptosis. *J. Virol.* **77**, 631–641 (2003)
- Miszczak D., Słońska A., Golke A., Cymerys J.: Herpesviruses survival strategies-latency and apoptosis. *Post. Hig. Med. Dosw. (Online)*, **67**, 276–287 (2013)
- Ohta A., Nishiyama Y.: Mitochondria and viruses. *Mitochondrion*, **11**, 1–12 (2011)
- Peixoto P.M., Lue J.K., Ryu S.Y., Wroble B.N., Sible J.C., Kinnally K.W.: Mitochondrial apoptosis-induced channel (MAC) function triggers a Bax/Bak-dependent bystander effect. *Am. J. Pathol.* **178**, 48–54 (2011)
- Pippig D.A., Hellmuth J.C., Cui S., Kirchofer A., Lammens K., Lammens A., Schmidt A., Rothenfusser S., Hopfner K.P. The

- regulatory domain of the RIG-I family ATPase LGP2 senses double-stranded RNA. *Nucleic Acids Res.* **37**, 2014–2025 (2009)
39. Portt L., Norman G., Clapp C., Greenwood M., Greenwood M.T.: Anti-apoptosis and cell survival: a review. *Biochim. Biophys. Acta*, **1813**, 238–259 (2011)
40. Prchal M., Pilz A., Simma O., Lingnau K., von Gabain A., Strobl B., Müller M., Decker T.: Type I interferons as mediators of immune adjuvants for T- and B cell-dependent acquired immunity. *Vaccine*, **27**, G17–G20 (2009)
41. Ramos H.J., Gale M. Jr.: RIG-I like receptors and their signaling crosstalk in the regulation of antiviral immunity. *Curr. Opin. Virol.* **1**, 167–76 (2011)
42. Rojo G., Chamorro M., Salas M.L., Vinuela E., Cuezva J.M., Salas J.: Migration of mitochondria to viral assembly sites in African swine fever virus-infected cells. *J. Virol.* **72**, 7583–7588 (1998)
43. Rupniewska Z., Bojarska-Junak A.: Apoptosis: mitochondrial membrane permeabilization and the role played by Bcl-2 family proteins. *Post. Hig. Med. Dosw. (Online)*, **58**, 538–547 (2004)
44. Saha S.K., Cheng G. i wsp.: Regulation of antiviral responses by a direct and specific interaction between TRAF3 and Cardif. *EMBO J.* **25**, 3257–3263 (2006)
45. Seth R.B., Sun L., Ea C.K., Chen Z.J.: Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF- κ B and IRF3. *Cell*, **122**, 669–682 (2005)
46. Smirnova E., Griparic L., Shurland D.L., van der Bliek A.M.: Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. *Mol. Biol. Cell.* **12**, 2245–2256 (2001)
47. Tait S.W., Green D.R.: Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **11**, 621–632 (2010)
48. Tait S.W., Green D.R.: Mitochondria and cell signalling. *J. Cell Sci.* **125**, 807–815 (2012)
49. Takeuchi O., Akira S.: Innate immunity to virus infection. *Immunol. Rev.* **227**, 75–86 (2009)
50. Takeuchi O., Akira S.: MDA5/RIG-I and virus recognition. *Curr. Opin. Immunol.* **20**, 17–22 (2008)
51. Takeuchi O., Akira S.: Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, **140**, 805–820 (2010)
52. Theofilopoulos A.N., Baccala R., Beutle B., Kono D.H.: Type I interferons (a/b) in immunity and autoimmunity. *Annu. Rev. Immunol.* **23**, 307–336 (2005)
53. Vandecasteele G., Szabadkai G., Rizzuto R.: Mitochondrial calcium homeostasis: mechanisms and molecules. *IUBMB Life*, **52**, 213–219 (2001)
54. Wallgren M., Lidman M., Pedersen A., Brännström K., Karlsson B.G., Gröbner G.: Reconstitution of the Anti-Apoptotic Bcl-2 Protein into Lipid Membranes and Biophysical Evidence for Its Detergent-Driven Association with the Pro-Apoptotic Bax Protein. *PLoS ONE* **8**, e61452 (2013)
55. Wang C., Youle R.J.: The role of mitochondria in apoptosis. *Annu. Rev. Genet.* **43**, 95–118 (2009)
56. Webster K.A.: Mitochondrial Death Channels. *Am. Sci.* **97**, 384–391 (2009)
57. West A.P., Shadel G.S., Ghosh S.: Mitochondria in innate immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* **11**, 389–402 (2011)
58. Westermann B.: Molecular machinery of mitochondrial fusion and fission. *J. Biol. Chem.* **283**, 13501–13505 (2008)
59. Xu L.G., Wang Y.Y., Han K.J., Li L.Y., Zhai Z., Shu H.B.: VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN- β signaling. *Mol. Cell*, **19**, 727–740 (2005)
60. Yasukawa K., Oshiumi H., Takeda M., Ishihara N., Yanagi Y., Seya T., Kawabata S., Kishimoto T.: Mitofusin 2 inhibits mitochondrial antiviral signaling. *Sci. Signal.* **2**, ra47 (2009)
61. Zemirli N., Arnoult D.: Mitochondrial anti-viral immunity. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **44**, 1473–1476 (2012)