УДК 612.017]:616.98:578.834

Assist. prof. Mimoza STAMENKOVSKA, PhD
European University Skopje
mimoza_2311@hotmail.com
+389 71 257 742
Assist. prof. Snezana IVIC-KOLEVSKA, PhD
PHI Re-Medika, Skopje
snezanaivickolevska@hotmail.com
+389 75 263 293

SARS-COV-2 AND APOPTOSIS

Abstract

Apoptosis is a mechanism that eliminates unnecessary cells from the body, which is an extremely important process for the normal functioning of any organism. A large number of viruses when they enter the cell cause a variety of changes in it, ie. the virus incorporates its genetic material (DNA or RNA) into the genetic material of the host cell, causing the host cell to synthesize parts of the virus, after which the cell bursts and millions of viral particles can attack other cells. Given the important role of apoptosis in the functioning of the immune system, viruses have developed a number of mechanisms that impede this process and thus ensure successful reproduction and spread. On the other hand, certain genetic products of viruses act as inducers of apoptosis, presumably in order to release and spread the viruses from the infected host cell without obtaining an adequate immune response. Apoptotic cell death activated by these viruses has a complex role in host antiviral immunity and may facilitate the spread of the virus or act as a mechanism for virus-induced tissue self-injury and disease progression.

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is an infectious virus that causes acute respiratory disease COVID-19. This virus is the cause of the pandemic that the World Health Organization declared on March 11, 2020. Genomic sequencing showed that the virus is a positive, single-stranded RNA coronavirus.

Current researches have shown that induction of apoptosis is one of the major hallmarks of SARS-CoV-2 virus infection and suggests that there is a direct link between apoptosis and disease severity. Discovering the mechanisms of action of the SARS-CoV-2 virus on apoptosis and the role of apoptosis in SARS-CoV-2 infection could be a potential therapeutic strategy in the treatment of SARS-CoV-2 virus infection. In this paper, we will summarize the researches which have been done so far and the results obtained, from the aspect of molecular biology in terms of cell death (apoptosis) during SARS-CoV-2 infection.

Keywords: cell death, mechanism, immunity, virus, respiratory disease.

Доц. д-р Мимоза СТАМЕНКОВСКА
Европски Универзитет Скопје
mimoza_2311@hotmail.com
Контакт тел: +389 71 257 742
Доц. д-р Снежана ИВИЌ-КОЛЕВСКА
ПЗУ Ре-Медика, Скопје
snezanaivickolevska@hotmail.com
Контакт тел: +389 75 263 293

SARS-COV-2 И АПОПТОЗА

Апстракт

е елиминираат непотребните клетки од организмот, што е исклучително важен процес за нормално функционирање на било кој организам. Голем број на вируси кога ќе навлезат во клетката предизвикуваат голем број промени во неа, т.е. вирусот го вградува неговиот наследен материјал (ДНК или РНК) во наследниот материјал на клетката домаќин, со што клетката домаќин започнува да ги синтетизира деловите на вирусот, по што клетката прснува и милиони вирусни честички можат да напаѓаат други клетки. Со оглед на важната улога на апоптозата во функционирањето на имунолошкиот систем, вирусите развиле бројни механизми кои го попречуваат нејзиниот процес и со тоа обезбедуваат успешна репродукција и ширење. Од друга страна, одредени генетски производи на вирусите дејствуваат како индуктори на апоптозата, веројатно со цел ослободување и ширење на вирусите од заразената клетка домаќин без да се добие соодветен имунолошки одговор. Апоптотичната клеточна смрт активирана од овие вируси има комплексна улога во антивирусниот имунитет на домаќинот и може да го олесни ширењето на вирусот или да дејствува како механизам за самооштетување на ткивата предизвикан од вируси и прогресија на болеста.

Тежок акутен дишен синдром коронавирус 2 (анг: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 - SARS-CoV-2) е заразен вирус кој ја предизвикува акутната дишна болест COVID-19. Овој вирус е причинител за пандемијата која Светската здравствена организација ја прогласи на 11 март 2020 година. Геномското секвенцирање покажало дека тој е позитивен, едно-ланчен РНК коронавирус.

Според досегашно направените истражувања, индукцијата на апоптозата е еден од главните белези на инфекцијата со вирусот SARS-CoV-2 и сугерираат дека постои директна врска помеѓу апоптозата и сериозноста на болеста. Откривањето на механизмите на делување на вирусот SARS-CoV-2 врз апоптозата и нејзината улога во инфекцијата со SARS-CoV-2 би можело да претставува потенцијална терапевтска стратегија во третманот на SARS-CoV-2 вирусната инфекција. Во овој труд, ние ќе ги сумираме досегашно направените истражувања и добиените резултати од аспект на молеларната биологија во поглед на клеточната смрт (апоптоза) за време на SARS-CoV-2 инфекција.

Клучни зборови: клеточна смрт, механизам, имунитет, вирус, дишна болест.

Вовед

Апоптозата е феномен на наследно програмирана смрт на клетките, со кој се отстрануваат несаканите клетки од телото и за прв пат е опишан во 1972 година (Kerr, Wyllie, Currie, 1972). За разлика од некрозата, која е форма на трауматска клеточна смрт која резултира од акутна клеточна повреда, апоптозата генерално е корисна за животот на организмот. Феноменот на програмирана клеточна смрт е карактеристичен за сите живи суштества, вклучително и за луѓето. Таа е од исклучителна важност за време на развојот на ембрионот и за одржувањето на ткивната хомеостаза (Cory, Huang, Adams, 2003). Нарушувањата на апоптозата допридонесуваат за појавата на многу патолошки состојби. Недостатокот на процесот на апоптоза може да резултира со развој на тумори, автоимуни болести и ширење на вирусна инфекција (Fadeel & Orrenius, 2005).

Апоптозата, исто така, игра важна улога во инфекцијата со инфективни агенси, особено со вирусни. Кога влегува во клетка, вирусот почнува брзо да се размножува, по што клетката прснува и милиони вирусни честички напаѓаат други клетки. Со активирање на апоптозата и со уништување на заразената клетка, телото спречува ширење на вирусот. Оттука, овој механизам е исклучително важен за ограничување на репликацијата на вирусот и неговото ширење на другите соседни клетки (Gioti et al., 2021).

Со оглед на важната улога на апоптозата во функционирањето на имунолошкиот систем, вирусите развиле бројни механизми кои го попречуваат нејзиниот процес и со тоа обезбедуваат успешна репродукција и ширење. Од друга страна, одредени генетски производи на вирусите дејствуваат како индуктори на апоптозата, веројатно со цел ослободување и ширење на вирусите од заразената клетка домаќин без да се добие соодветен имунолошки одговор (Janković & Markotić, 2007). Според досегашно направените истражувања, индукцијата на апоптозата е еден од главните белези на инфекцијата со коронавирусот SARS-CoV-2 (Donia & Bokhari, 2021).

1. Коронавируси

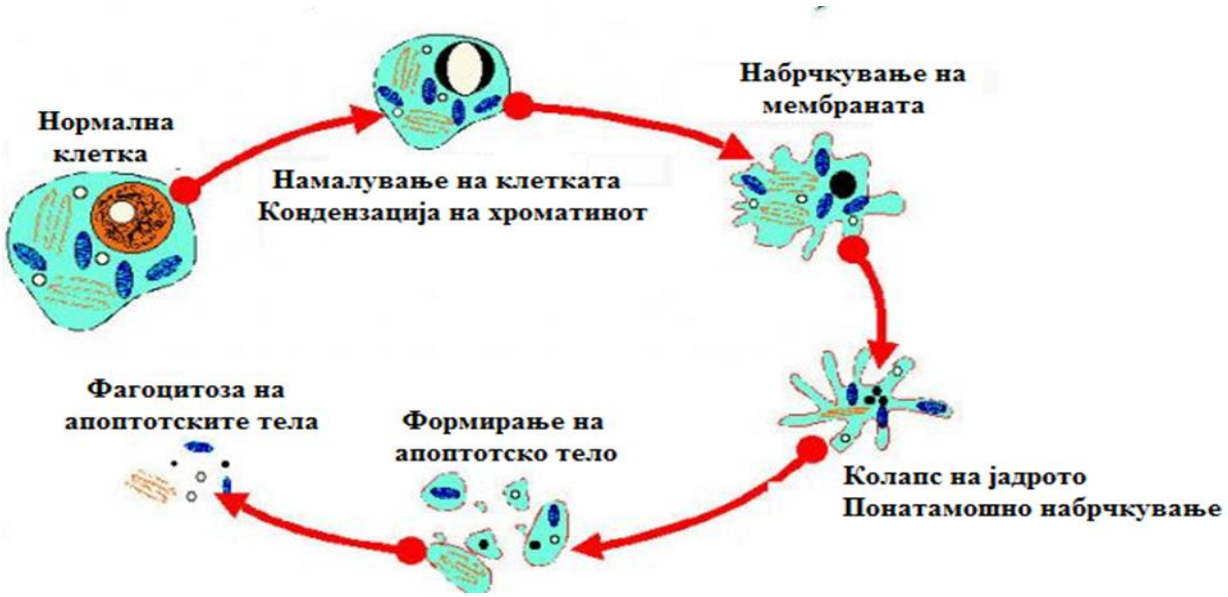
Коронавирусите се меѓу најголемите РНК вируси идентификувани досега. Нивниот геном е долг околу 30 kb, со четири структурни протеини и неколку неструктурни и дополнителни протеини. Тие се класифицирани во алфа, бета, гама и делта коронавируси. Досега се изолирани неколку животински и човечки коронавируси кои претежно предизвикуваат респираторни или гастроинтестинални

инфекции. Како и другите вируси, тие ја искористуваат клеточната машинерија на вирусот во сите фази на нивната репликација. Ова вклучува модифицирање на експресијата на разни гени на домаќинот, вклучително и оние што кодираат одбрана на домаќинот за да се олесни репликацијата на вирусот (Donia & Bokhari, 2021).

2. Апоптоза, морфолошки промени и начин на одвивање на апоптозата

Апоптозата е феномен на наследно програмирана смрт на клетките. Терминот „апоптоза“ потекнува од грчките зборови - *апо (*απο = од), и *птоза* (πτωσισ = паѓање) (Панов, 2014). Феноменот на програмирана клеточна смрт е карактеристичен за сите живи суштества, вклучително и за луѓето. Во човечкото тело секој ден во физиолошки услови е пресметано дека просечно изумираат по околу 60 милиони клетки преку апоптотична смрт (Панов, 2014). Уништените клетки последователно се заменуваат со нови клетки формирани со клеточна делба (митоза).

Морфолошки знаци на апоптозата се: намалување на клетките, кондензација и фрагментација на јадрото, уништување на цитоскелетот, набрчкување на клеточната мембрана, митохондријална дисфункција и активирање на клеточни протеази и нуклеази со последователна деградација на ДНК (Hengartner, 2000). На крајот од процесот остануваат апоптотични тела во клетката, кои се препознаваат и отстрануваат од страна на фагоцитите (Janković, & Markotić, 2007).



Слика 1. Основен механизам на апоптоза

Извор: www.microbiologybytes.com/virology/kalmakoff/baculo/baculohostinteract.html

Текот на апоптозата се одвива на следниот начин:

1. Активирање на апоптоза - Само-програмираната смрт на клетките, тогаш не може повеќе да се запре;
2. Клетката се намалува на околу 1/10 од нејзината оригинална големина;
3. Нуклеазите (ензимите) ја разбиваат ДНК на неколку парчиња, предизвикувајќи клетката да ја изгуби способноста за делба (митоза);
4. Каспазите (ензимите) ги разградуваат структурните протеини (нишки на актин и посреднички нишки) на клетката, со што се нарушува стабилноста на клетката;
5. Клетката се распаѓа на неколку помали везикули;
6. Фагоцитите (макрофагите) започнуваат со уништување на преостанатите компоненти на клетките;
7. Соседната клетка се дели (митоза) и го зазема местото на уништената клетка.

Важна карактеристика на апоптозата е дека отстранувањето на умирачките клетки се случува без развој на воспаление.

Поттикнувањето на апоптозата е можно со:

1. непоправливо оштетување на ДНК (како резултат на зрачење, дејство на токсични агенси, глукокортикоиди итн);
2. ослободување на цитокини (протеини со регулаторна функција) од помошници Т-клетки, како резултат на имунолошка реакција;
3. оштетување или губење на функцијата на митохондриите, што доведува до ослободување на цитохром с, што предизвикува смрт на клетките;
4. активирање на рецептори на „регионот на клеточна смрт“ без оштетување на ДНК.

Рецепторите т.н. „регион на клеточна смрт“ се група на рецептори на мембраните (од надворешната до внатрешната страна) на сите клетки кои примаат про-апоптотски стимули. Тие припаѓаат на семејството на рецептори на TNFR (од анг. рецептори на тумор некрозен фактор). Ако се зголеми бројот и активноста на ваквите рецептори, тогаш се зголемува и бројот на апоптички умирачки клетки.

Факторите за раст, пак, се едни од најсилните инхибитори на процесот на апоптоза.

3. Ензими вклучени во апоптозата

Клучните ензими во процес на програмирана клеточна смрт се каспазите. Тие се присутни во клетката како проензими, а нивното активирање се случува со каскадно протеолитичко разложување. Денес се познати 14 видови каспази (обележани со броеви од 1 до 14), кои припаѓаат на семејството на цистеински протеази. Каспазите кои учествуваат во процесот на апоптоза според структурните и функционалните истражувања се поделени во две групи: иницијациски каспази (каспази 8, 9 и 10) и извршни каспази (каспази 3, 6 и 7). Иницијациските каспази го започнуваат процесот на апоптоза и се надлежни за протеолитичко разложување и активирање на извршните каспази, кои пак се одговорни за протеолитичкото разложување на голем број на клеточни протеини и последователна смрт на клетките (Shi, 2002; Fischer, Janicke, Schulze-Osthoff, 2003). Каспазата 8 во литературата често се нарекува FLICE (ang. Fas associated death domain like IL-1β converting enzyme - Фас поврзан домен на смртта како ензим конвертирачки IL-1β). Следењето на активноста на каспазите е од витално значење во рамките на здравите клетки, а го вршат протеини кодирани од страни клетки, како и тие кодирани од страна на патогените (Stennicke, Ryan, Salvesen, 2002).

4. Регулатори на апоптозата

Апоптозата е регулирана од неколку про и анти-апоптотични протеини во клетката домаќин. Една таква фамилија на протеини е семејството Bcl-2 (Gioti et al., 2021). Bcl-2 бил првиот онкоген за кој се покажало дека ја инхибира клеточната смрт (на пр. кај фоликуларните лимфоми). За прв пат се покажало дека туморигенезата зависи, меѓу другото, и од способноста на изменетата клетка да спречи апоптоза. Членовите на фамилијата Bcl-2 може да се класифицираат во две групи: една која го поттикнува опстанокот на клетките и друга што ја поттикнува апоптозата. Членовите на групата што промовирааат опстанок на клетките, како на пример: Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1 и A1, имаат четири поврзани хомологни региони (BH 1-4), додека членовите на групата што ја стимулираат апоптозата може да се поделат во две функционално и структурно различни подгрупи. Првата подгрупа се состои од протеините: Bim, Bid, Bad, Bik, Bmf и Hrk кои имаат исклучиво хомолошки регион BH-3 („само BH3“) и се активираат во одговор на различни форми на клеточен стрес (Puthalakath & Strasser, 2002). Во другата подгрупа спаѓаат Bax и Bak, поседуваат BH1, BH2 и BH3 хомологни региони и се клучни за процесот на апоптоза (Cheng, Wei, Weiler et al., 2001; Zong, Lindsten, Ross et al., 2001; Lindsten, Ross, King et al., 2000; Rathmell, Lindsten, Zong et al., 2002). Поедноставно кажано, сигналите за смртта се пренесуваат преку протеинот („само BH3“) кој потоа стимулира активирање на двата про-апоптотски членови на семејството Bcl-2, Bax и Bak, а тие играат клучна улога во ослободувањето на цитохром с во цитоплазмата (Janković & Markotić, 2007).

Друга фамилија на протеини кои ја регулираат апоптозата се митоген-активирани протеински кинази (MAPKs), кои вклучуваат екстрацелуларно регулирани кинази 1/2 (ERK1/2), ERK5, p38 и c-Jun N-терминални кинази (JNK). Преку JNK сиглалниот пат може да се активираат про-апоптотски гени или со заедно дејство на

Bcl-2 да се активираат други транскрипциски фактори (Gioti et al., 2021).

5. Патеки на апоптозата

Кај цицачите се опишани две главни програмирани патеки на клеточна смртност, внатрешна (интринсична) и надворешна (екстринсична). И двете патеки во крајна линија резултираат со активирање на извршните каспази (Strasser, O'Connor, Dixit, 2000). Апоптозата активирана од „рецепторите на смртта“ обично се нарекува надворешна патека, за разлика од внатрешната патека, што зависи од метаболната состојба на клетката и пренесените сигнали преку митохондриите. Постои комуникација помеѓу надворешните и внатрешните патеки на апоптозата во облик на расцепување на протеинот Bid, про-апоптотичен член на семејството Bcl-2 (Luo et al., 1998).

6. Вирусите и апоптозата

Со оглед на важната улога на апоптозата во функционирањето на имунолошкиот систем, вирусите развиле бројни механизми со кои што делуваат на апоптозата на различни начини, со што би го овозможиле своето размножување и ширење во клетката домаќин. На пример, инфекциите предизвикани од аденовируси, бацуловируси, херпесвируси и покс вируси се поврзани со намалување на апоптозата. Вирусите кои кодираат антиапоптотични протеини имаат можност да го завршат циклусот на репликација на вирусите пред уништувањето на клетките и ширењето на вирусите. Во овој случај, апоптотичната клеточна смрт има важна улога во одбраната на домаќинот со инхибиција на ширењето на вирусот (Kaminskyy & Zhivotovsky, 2010).

Спротивно на тоа, инфекциите предизвикани од вируси на грип или хумана имунодефициенција (HIV-1) се поврзани со зголемена стапка на апоптоза. Апоптозата може да помогне при излегувањето на вирусите од клетката, а сузбивањето на апоптозата може да ја спречи вирусната патогенеза. Затоа, апоптозата активирана од вируси има комплексна улога во антивирусниот имунитет на домаќинот и може да го олесни ширењето на вирусот или да дејствува како механизам за повреда на ткивото предизвикана од вируси и прогресија на болеста (Kaminskyy, Zhivotovsky, 2010; Ampomah & Lim, 2020; Danthi et al., 2008; Zhou et al., 2017).

Може да се каже дека вирусите развиле разни стратегии за инхибиција или промоција на апоптозата. Нивното влијание врз каскадата на клеточна смрт - апоптоза може да биде на кое било од нивоата, од врзување со клеточните рецептори на смрт до регулација на интрацелуларно ниво (Janković & Markotić, 2007).

7. SARS-CoV-2 и апоптоза

SARS-CoV-2 (анг: Severe acute respiratory syndrome coronavirus *2*, во превод: Тежок акутен дишен синдром коронавирус 2) е новооткриен заразен вирус кој ја предизвикува акутната дишна болест COVID-19 и предизвика пандемиско пренесување во светот од крајот на 2019 година (Donia & Bokhari, 2021). Геномското секвенцирање покажало дека тој е позитивен, едно-ланчен РНК коронавирус. Вирусот се пренесува од човек на човек преку дишни капки од кашлање од лица кои се заразени со вирусот (CDC, 2020) или индиректно преку контаминирани површини (WHO, 2020).

Претходните истражувања покажале дека кодираниот SARS-CoV дополнителен протеин ORF3a може да предизвика апоптоза во клетките (Freundt et al., 2010; Law et al, 2005). Една неодамнешна студија покажала дека SARS-CoV-2 ORF3a, исто така, може ефикасно да предизвика апоптоза во клетките (Ren et al, 2020). SARS-CoV-2 ORF3a може да предизвика активирање/расцепување на каспаза-8 без ефект врз нивото на експресија на Bcl-2. Активирањето/расцепувањето на каспаза-8 е познато како белег на надворешната апоптотска патека, додека Bcl-2 има клучна улога во започнувањето на внатрешната патека (Chen & Wang, 2002). Ова подразбира дека SARS-CoV-2 ORF3a предизвикува апоптоза преку надворешната апоптотска патека (Ren et al., 2020).

Според една неодамнешна студија, SARS-CoV-2 инфекцијата може да ја активира каспаза-8 за да предизвика апоптоза и ослободување на проинфламаторни цитокини во епителните клетки на белите дробови, поттикнувајќи го процесот на некроптоза (Li et al., 2020). Активирањето на апоптозата со посредство на каспаза-8 и воспалителните реакции може да предизвикаат имунолошка патогенеза низ течението во белодробното ткиво.

Каспаза-8, која претходно се сметаше исклучиво како апоптотска каспаза, во едно поново истражување се наведува дека е главен регулатор на трите главни патеки на смртта на клетките, вклучително и: апоптоза, пироптоза и некроптоза (Amaral & Bortoluci, 2020). Неодамна било објавено дека каспаза-8 може да предизвика експресија на проинфламаторни цитокини и да ги процесира про-IL-1β и IL-18 на ист начин како каспаза-1, што резултира со ослободување на биоактивни цитокини, преку пироптоза или некроптоза (Tummers & Green, 2017). Улогата на каспаза-8 во посредувањето на инфламаторните одговори била опишана во контекст на инфекција со габични патогени како што се: *Candida albicans* и *Aspergillus fumigatus* (Gringhuis et al., 2012). Според друго истражување, SARS-CoV-2 инфекцијата на епителните клетки на белите дробови предизвикува активирање на каспаза-8 што предизвикува клеточна апоптоза и ослободување на воспалителни цитокини, вклучително и IL-1β во биоактивна форма (Shufen et al., 2020). Во ова истражување е докажано дека инфекцијата со SARS-CoV-2 предизвикува двојно активирање на патеките на клеточна смрт: апоптоза и некроптоза, а исто така биле забележани и инфламаторни одговори кај заразените HFH4-hACE2 трансгенски модели од глувци и кај постморталните делови на белите дробови од смртни случаи на пациенти со COVID-19. Оттука, клеточната смрт и

воспалителните реакции се тесно поврзани со инфекцијата со SARS-CoV-2. Исто така, во истражувањето било откриено и дека воспалителните одговори од заразените епителни клетки можат дополнително да предизвикаат инфилтрација на воспалителните клетки кои предизвикуваат силна имунолошка патогенеза, откриена во постмртните делови на белите дробови од смртни случаи на пациенти со COVID-19 (Shufen et al., 2020).

Оттука, досега направените истражувања од достапната литература, сугерираат дека оштетувањето на белите дробови предизвикано од вирусот и воспалителната бура на цитокини се директно поврзани со клиничките манифестации на COVID-19, што значи дека таргетирањето на апоптозата предизвикана од вирусот може да биде нова надеж во третманот на инфекцијата со вирусот SARS-CoV-2 (Donia & Bokhari, 2021; Shufen et al., 2020).

Заклучок

Модулацијата на програмираната клеточна смрт - апоптоза е важна компонента во патогенезата со вирусни инфекции. Според досегашно направените истражувања, индукцијата на апоптозата е еден од главните белези на инфекцијата со вирусот SARS-CoV-2. Клеточните патеки што ја активираат апоптозата можат да се активираат директно од самата вирусна инфекција или индиректно преку други сигнални каскади. Втората патека се активира од присуството на вирусот и ги регрутира имуните клетки на местото на инфекцијата. Крајниот ефект е апоптоза, која предизвикува значително оштетување на ткивата при литичка инфекција. Според досега направените истражувања, пациентите со тешка клиничка слика со COVID-19 имаат поголема концентрација на апоптотични клетки, во споредба со тие со полесна, што сугерира дека постои директна корелација помеѓу стапката на апоптоза и патогеноста/сериозноста на COVID-19.

Може да се заклучи дека изостанувањето на активацијата на апоптоза не само што ќе ја инхибира клеточната смрт и оштетувањето на ткивото, туку, исто така, ќе резултира со намалување на ослободувањето на SARS-CoV-2 од заразените клетки. Претходните истражувања сугерираат дека може да се користат инхибитори на каспази во клетките инфицирани со вирусот SARS-CoV-2. Сепак, потребни се и понатамошни испитувања за целосно да се разбере начинот на функционирање на сигналните патишта на апоптозата кај инфекцијата со SARS-CoV-2. Досегашно направените истражувања од достапната литература, ни укажуваат дека разбирањето и таргетирањето на сигналните патишта на вирус-индуцираната апоптоза во клетките би можела да биде ветувачка стратегија во третманот и менаџирањето на инфекција со вирусот SARS-CoV-2.

Литература

1. Amaral, M. P., Bortoluci, K. R. (2020). “Caspase-8 and FADD: where cell death and inflammation collide”. *Immunity*. 52:890-892.
2. Ampomah, P., Lim, L. (2020). “Influenza A virus-induced apoptosis and virus propagation”. *Apoptosis*. 25:1-11.
3. Benedict, C., Norris, P., Ware, C. (2002). “To kill or be killed: viral evasion of apoptosis”. *Nature Immunology*. 3:1013-1018.
4. Chen, M., Wang, J. (2002). “Initiator caspases in apoptosis signaling pathways”. *Apoptosis*. 7:313-319.
5. Cheng, E., Wei, M., Weiler, S., et al. (2001). “Bcl-2, Bcl-xL sequester BH3 domain-only molecules preventing Bax- and Bak-mediated mitochondrial apoptosis”. *Mol Cell*. 8:705-11.
6. Cory, S., Huang, D., Adams, J. (2003). “The Bcl-2 family: role in cell survival and oncogenesis”. *Oncogene*. 22:8590-607.
7. Danthi, P. et al. (2008). “Reovirus apoptosis and virulence are regulated by host cell membrane penetration efficiency”. *J Virol*. 82:161-172.
8. Donia, A., Bokhari, H. (2021). “Apoptosis induced by SARS-CoV-2: can we target it?” *Apoptosis.* 26:7-8. https://doi.org/10.1007/s10495-021-01656-2
9. Fadeel, B., Orrenius, S. (2005). “Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease”. *J Intern Med*. 258:479-517.
10. Fischer, U., Janicke, R., Schulze-Osthoff, K. (2003). “Many cuts to ruin: a comprehensive update of caspase substrates”. *Cell Death Differ*. 10:76-100.
11. Freundt, E. et al. (2010). “The open reading frame 3a protein of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus promotes membrane rearrangement and cell death”. *J Virol.* 84:1097-1109.
12. Gioti, K. et al. (2021). “Animal Coronaviruses Induced Apoptosis”. *Life*. 11(3):185.
13. Gringhuis, S. I. et al. (2012). “Dectin-1 is an extracellular pathogen sensor for the induction and processing of IL-1beta via a noncanonical caspase-8 inflammasome”. *Nat. Immunol*. 13:246-254.
14. Hengartner, M. (2000). “The biochemistry of apoiptosis”. *Nature*. 407:770-6.
15. Janković, M., Markotić, A. (2007). *Viruses and apoptosis.* Croatian Journal of Infection 27:2:63-70.
16. Kaminskyy, V., Zhivotovsky, B. (2010). “To kill or be killed: how viruses interact with the cell death machinery”. *J Intern Med*. 267(5):473-482.
17. Kerr, J., Wyllie, A., Currie, R. (1972). “Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics”. *Br J Cancer*. 26:239-57.
18. Law, P. et al. (2005). “The 3a protein of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus induces apoptosis in Vero E6 cells”. *J General Virol*. 86:1921-1930.
19. Li, S. et al. (2020). “SARS-CoV-2 triggers inflammatory responses and cell death

through caspase-8 activation”. *Signal Transd Targeted Ther*. 5:1-10.

20. Lindsten, T., Ross, A., King, A., et al. (2000). “The combined functions of proapoptotic Bcl-2 family members Bak and Bax are esential for normal development of multiple tissues”. *Mol Cell.* 6:1389-99.
21. Luo, X., Budihardjo, I., Zou, H., Slaughter, C., Wang, X. (1998). “Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors”. *Cell*. 94:481-490.
22. Панов, С. (2014). *Основи на молекуларната биологија и молекуларната генетика*. Универзитет „Св. Кирил и Методиј“, Природно-математички факултет - Скопје, електронско издание.
23. Puthalakath, H., Strasser. A. (2002). “Keeping killers on a tight leash: transcriptional and post-translational control of the pro-apoptotic activity of BH3-only proteins”. *Cell Death Differ*. 9:505-12.
24. Rathmell, J., Lindsten, Zong et al. (2002). “Deficiency in Bak and Bax perturbs thymic selection and lymphoid homesostasis”. *Nature Immunolgy*. 3:932-39.
25. Ren, Y. et al. (2020). “The ORF3a protein of SARS-CoV-2 induces apoptosis in cells”. *Cell Mol Immunol*. 17:881-883.
26. Roulston, A., Marcellus, R., Branton, P. (1999). “Viruses and apoptosis”. *Annu Rev Microbiol.* 53:577-628.
27. Shi, Y. (2002). “Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis”. *Mol Cell*. 9:459-70.
28. Shufen, L. et al. (2020). “SARS-CoV-2 triggers inflammatory responses and cell death through caspase-8 activation”. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 5(1). doi:10.1038/s41392-020-00334-0
29. Stennicke, H., Ryan, C., Salvesen, G. (2002). “Reprieval from execution: the molecular basis of caspase inhibition”. *Trends Biochem Sci*. 27:94-101.
30. Strasser, A., O'Connor, L., Dixit, V. (2000). “Apoptosis signaling”. *Annu Rev Biochem* 69:217-45.
31. Tummers, B., Green, D. R. (2017). “Caspase-8: regulating life and death”. *Immunol. Rev*. 277:76-89.
32. U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2020). How COVID-19 Spreads. Достапно на: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/transmission/, [Пристапено на 10.06.2021]
33. Vaux, L., Cory, S., Adams, J. (1988). “Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells”. *Nature*. 335:440-2.
34. World Health Organization. (2020). Getting your workplace ready for COVID-19. Достапно на https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/getting-workplace-ready-for-covid-19.pdf, [Пристапено на 10.06.2021]
35. Zong, W., Lindsten, T., Ross, A., et al. (2001). “BH3-only proteins that bind pro-

survival Bcl-2 family members fail to induce apoptosis in the absence of Bax and Bak”. *Genes Dev*. 15:1481-6.

36. Zhou,. X. et al. (2017). “Virus infection and death receptor-mediated apoptosis”. *Viruses*. 9:316.