

УЧАСТИЕ НА НЕКРОПТОЗАТА В РАЗВИТИЕТО НА СЪРДЕЧНОСЪДОВИТЕ ЗАБОЛЯВАНИЯ

Дияна Кючукова, Камелия Братоева

*Катедра „Физиология и патофизиология“, Факултет по медицина,
Медицински университет – Варна*

THE INVOLVEMENT OF NECROPTOSIS IN THE DEVELOPMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASES

Diyana Kyuchukova, Kameliya Bratoeva

*Department of Physiology and Pathophysiology, Faculty of Medicine,
Medical University of Varna*

РЕЗЮМЕ

Последни данни сочат, че клетъчната смърт чрез некроптоза, медирана от рецепторите на смъртта $TNF-\alpha/TNFR1$ (TNF рецептор 1), рецептор-взаимодействащите протеин кинази ($RIPK1$ и $RIPK3$) и киназия домейн-подобен протеин ($MLKL$), е замесена в патогенезата на исхемично-реперфузионен синдром, остро бъбречно увреждане, сърдечносъдови заболявания, невродегенеративни заболявания и др. Плазмената концентрация на $RIPK3$ при пациенти със сърдечна недостатъчност е значително по-висока от тази на здрави индивиди и повишаването на плазмения $RIPK3$ е предиктор за лоша прогноза при пациенти със сърдечна недостатъчност. Според последни проучвания $RIPK3$ се очертава като независим таргет и медиатор на некроптоза в кардиомиоцитите, сърдечно ремоделиране, активиране и синтез на провъзпалителни медиатори и цитокини, демонстрирано в модели на заболявания и селективна инхибиция с некростатин-1. Освен това некроптозата се свързва и с развитието на ендотелна дисфункция и атеросклероза, тъй като е установено, че експресията на $RIP3$ и $MLKL$ е значително повишена в напреднали атеросклеротични плаки. Въпреки това познанията ни за участието и въздействието на некроптозата в патогенезата на сърдечносъдовите заболявания са все още ограничени и не позволяват мониторирането на пациенти в клиничната практика, както и използването на селективни инхибитори за терапевтично повлияване е недостатъчно проучено.

Целта на настоящия обзор е да представим основни механизми на некроптоза и да се изясни ролята, която тази клетъчна смърт играе при

ABSTRACT

Recent data indicate that necroptosis, mediated by the death receptors $TNF-\alpha/TNFR1$, receptor-interacting protein kinases ($RIPK1$ and $RIPK3$), and mixed lineage kinase domain-like protein ($MLKL$), is implicated in the pathogenesis of ischemia-reperfusion syndrome, acute kidney injury, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, etc. The plasma concentration of $RIPK3$ in heart failure patients is markedly elevated compared to healthy individuals, and increased plasma $RIPK3$ serves as a prognostic indicator in heart failure patients. Recent studies demonstrate that $RIPK3$ functions as an independent target and mediator of necroptosis in cardiomyocytes, influencing cardiac remodeling and the activation and synthesis of pro-inflammatory mediators and cytokines, as evidenced in disease models and by selective inhibition using necrostatin-1. Moreover, necroptosis is linked to endothelial dysfunction and atherosclerosis, as the expression of $RIPK3$ and $MLKL$ is markedly elevated in advanced atherosclerotic plaques. Currently, our understanding of necroptosis's role and effects in the pathogenesis of cardiovascular diseases is still limited, hindering patient monitoring in clinical settings. Furthermore, the investigation of selective inhibitors for therapeutic responses is insufficiently explored.

This review aims to elucidate the basic mechanisms of necroptosis and to clarify its role in cardiovascular pathology. The study outlines potential therapeutic models wherein the inhibition of necroptotic mediators may reduce pathological changes and clinical symptoms associated with cardiovascular diseases.

Keywords: necroptosis, $RIPK3$, cardiovascular diseases, Nec-1

сърдечносъдовата патология. Проучването описва и потенциални терапевтични модели, при които инхибирането на некроптотични медиатори може да подобри патологичните промени и клиничните симптоми на ССЗ.

Ключови думи: некроптоза, RIPK3, сърдечносъдови заболявания, Нес-1

ВЪВЕДЕНИЕ

Терминът „сърдечносъдови заболявания“ (ССЗ) се отнася до обща група патологии, които включват сърдечни заболявания, съдови увреди (като атеросклероза), инфаркт, инсулт, сърдечна недостатъчност, аритмия и различни нарушения на сърдечните клапи. С всяка изминала година се наблюдава увеличаване на заболяемостта и смъртността, свързани със ССЗ, което ги превръща в огромно бреме за здравеопазването в световен мащаб като в някои държави, вкл. и България смъртността от ССЗ заема първи места. Следователно превенцията, лечението и прогнозата на ССЗ се очертават като ключови области в медицинските изследвания (32). Патогенезата на ССЗ включва различни процеси на клетъчна увреда като исхемия, възпаление, оксидативен стрес и др., които са обвързани с молекулярни сигнални пътища на различни форми на клетъчна смърт - програмирана (процес на клетъчно самоунищожение под генетичен контрол) и непрограмирана (22) (табл. 1).

(10), пироптоза (18)) и автофагия (28) демонстрират намаляване на смъртта на кардиомиоцитите и размера на инфаркта в контекста на състояние на исхемия/реперфузия.

През последните години интерес за клиничната практика представлява сигналният път на клетъчна смърт, медиран от рецепторите на смъртта и рецептор-взаимодействащите протеин кинази (RIPK1 и RIPK3) и киназния домейн-подобен протеин (MLKL). Тази форма на програмирана некроза е т.нар. RIPK-зависимата некроза (наричана още „некроптоза“), при която активацията на киназата RIPK3 води до бърза клетъчна смърт с характеристиките на некроза (6). Редица изследвания показват, че RIPK1-RIPK3-MLKL-медираната некроптоза играе основна роля в патогенезата на множество заболявания, включително в прогресирането на асоциираната с метаболитна дисфункция стеатозна чернодробна болест (MASLD) (35), исхемично-реперфузионен синдром (16), атеросклероза и сърдечносъдови заболявания (11). Плазменната концентрация на RIPK3 при пациенти със

Табл. 1. Типизиране на различните видове клетъчна смърт

Клетъчна смърт	Тип I	Тип II	Тип III	Тип IV	Тип V
Програмирана	Апоптоза	Автофагия -микро- -макро- -шаперон- медирана		Ентоза	Некроптоза, пироптоза, фероптоза, параптоза и др.
Непрограмирана			Некроза		

Данни от литературата показват, че различните форми на регулирана клетъчна смърт имат някои общи сигнални пътища на проява. В зависимост от патогенния сигнал и клетъчни медиатори се активира определен тип клетъчна смърт, която причинява увреждане на клетките и техните физиологични функции (22). Генетичното инхибиране на молекулярните сигнални пътища на некроза (30), некроптоза (41,24), фероптоза

сърдечна недостатъчност е значително по-висока от тази на здрави индивиди и повишаването на плазмения RIPK3 е предиктор за лоша прогноза при пациенти със сърдечна недостатъчност (14). Въпреки това познанията ни за участието и въздействието на некроптозата в патогенезата на сърдечносъдовите заболявания са все още ограничени и не позволяват мониторирането на пациенти в клиничната практика, както и използ-

ването на селективни инхибитори за терапевтично повлияване е недостатъчно проучено.

Целта на настоящия обзор е да представим основни механизми на некроптоза и да се изясни ролята, която тази клетъчна смърт играе при сърдечносъдовата патология. Проучването описва и потенциални терапевтични модели, при които инхибирането на некроптотични медиатори може да подобри патологичните промени и клиничните симптоми на ССЗ.

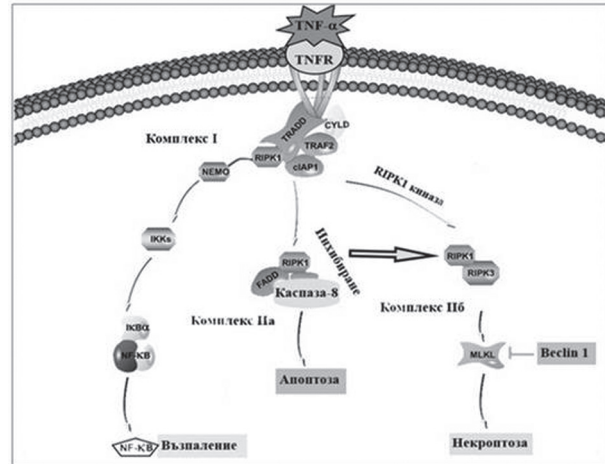
Молекулярни механизми на некроптоза

Некроптозата или програмираната некроза е алтернативна форма на координирано клетъчно самоубийство, което завършва с литична некроза на клетката и излив на цитозола в междуклетъчното пространство. Некроптотичната клетъчна смърт споделя всички основни морфологични характеристики на некрозата, включително подуване на органели, липса на ядрена фрагментация, разкъсване на плазмената мембрана и изтичане на вътреклетъчни компоненти (33). Въпреки това тя представлява различен тип клетъчна смърт въз основа на молекулярните сигнални пътища, които я активират.

За първи път Holler et al. (2000) установяват, че Fas задейства алтернативен, независим от каспаза-8 път на клетъчна смърт (апоптоза), в който киназата RIPK1 служи като ефекторна молекула.

През 2005 г. некроптозата бе описана като нова, предизвикана от TNF- α , неапоптозна и независима от каспаза-8 форма на клетъчна смърт (6). Въпреки своите морфологични прилики всеки програмиран некротичен път използва различен молекулен механизъм и генерира различни имунологични резултати. За разлика от пасивния имунен отговор, наблюдаван при апоптоза, клетките, умиращи от програмирана некроза, активно освобождават свързани с увреждането молекулни модели (DAMPs), цитокини и хемокини, което води до възпалителен отговор (Kim et al., 2019). Рецепторите на смъртта като тумор некрозис фактор рецептор 1 (TNFR1), FAS рецептор и Toll-подобни рецептори (TLRs) са основни медиатори на клетъчна смърт (1). Стимулирането на тези рецептори активира каспаза-8 и по този начин се задейства апоптоза в отсъствието на NF- κ B път на оцеляване (36). При други условия обаче, на липса на каспазна активация, пак същите рецептори могат да задействат некроптоза като алтернативен път за клетъчна смърт (12,6). Degterev et. al. (2005) установяват, че рецепторите на смъртта като TNFR1, FAS (CD95) и DR4/5 (TRAIL-R1/2) медиат некроптоза в присъствието на каспазен инхиби-

тор zVAD.fmk (zVAD). В допълнение некроптозата може също да бъде инициирана от членове на семейството на рецепторите за разпознаване на модели (PRRs - Pattern recognition receptors), които се експресират от клетки на вродената имунна система, за разпознаване на патоген-свързани молекулни модели (PAMPs) (37) като вирусни или бактериални нуклеотиди, липопротеини, липополизахариди или пептидоглика-



Фиг. 1. Медиатори на некроптоза. TNFR-зависим път на некроптоза

TNF- α се свързва с TNFR и ангажира серия от протеини, включително RIPK1, формирайки комплекс I. NEMO ангажира IKK α /IKK β , което води до IKK-медирано фосфорилиране на I κ B α , а I κ B α фосфорилирането ѝ активира сигналните пътища на NF- κ B. Когато активирането на NF- κ B е инхибирано, деубиквитинираните RIPK1, FADD и каспаза-8 се сглобяват като комплекс IIa. Комплекс IIa участва в апоптозата чрез активирана каспаза-8 и разцепване на RIPK1. Когато има липса на каспаза-8 (след инхибиране напр.), cIAP1 в комплекс I бързо убиквитинира RIPK1, което води до образуване на комплекс между RIPK1 и RIPK3, т.нар. некрозома, или комплекс IIb. Комплекс IIb води до MLKL-медирана некроптоза чрез каскада на фосфорилиране. Фосфорилираният MLKL претърпява олигомеризация и мигрира към плазмената мембрана, където индуцира некроптоза чрез иницииране на разкъсване на мембраната или регулиране на йонния поток. Beclin1 е активиращ автофагията протеин, който може също да инхибира MLKL активираната некроптоза.

Легенда: TNF - тумор некрозис фактор; TNFR - рецептор на тумор некрозис фактор; TRADD - TNFR-асоцииран домейн на смърт; MLKL - смесена линия на киназия домейн-подобен протеин; RIPK1 - рецептор-взаимодействаща протеин киназа 1; RIPK3 - рецептор-взаимодействаща протеин киназа 3; IKK α /IKK β - киназа, активираща NF- κ B (ядрен нуклеарен фактор); NEMO (IKK γ) - киназа, есенциален модулатор на NF- κ B; FADD - Fas-асоцииран домейн на смърт; cIAP1 - клетъчен инхибитор на апоптозен протеин 1.

ни и реагират, като предизвикват възпалителен отговор или некроптоична клетъчна смърт. Най-задълбочено изследван от гореизложените молекулярни механизми е TNF- α /TNF рецептор 1 (TNFR1) активираната некроптоза (фиг.1). При свързване на TNF- α към неговия лиганд TNFR1 настъпват редица конформационни промени, които позволяват набирането на множество протеини като TNFR-свързан домейн на смъртта (TRADD), RIP1, клетъчни инхибитори на апоптоза (cIAP1 и cIAP2), TNFR-асоцииран фактори (TRAF2 или TRAF5) (29), образувайки комплекс, който по-нататък модулира клетъчния отговор.

Свързването на TNF- α с TNFR1 в зависимост от типа клетка, клетъчното активиране и факторите на средата може да доведе до клетъчно оцеляване, апоптоза или некроптоза, което илюстрира една сложна мрежа от сигнали, които работят надолу по веригата на TNFR1 и могат да „превключват“ между различните форми на клетъчна смърт. По-точно системата на убиквитиниране и инициаторните каспази, като каспаза 8, модулират молекулярните превключватели, които диктуват биологичния отговор след активирането на TNFR1 (37).

Некроптоза и сърдечносъдови заболявания

Все повече проучвания установяват индуциране на некроптозата при различни ССЗ, вкл. и като водещ фактор в патогенезата на състояния като остро бъбречно увреждане и исхемично-реперфузионен синдром (16), сърдечносъдови заболявания (11), невродегенеративни заболявания (39) и др. Инфарктът на миокарда, характеризира се с необратима смърт на миокардните клетки, вследствие на регионална миокардна исхемия и хипоксия, е една от водещите причини за смъртност в световен мащаб. Изследвания върху некроптозата доказват, че в сравнение с мишки от див тип (WT) нивата на RIPK1 и RIPK3 са значително по-високи в сърцата на мишки с исхемия (31,26). В модел на мишка с остър исхемично-реперфузионен синдром (IRI) дефицитът на RIPK3 протектира сърцето от индуцирана некроптоза и намалява размера на инфаркта (41). Така и в своето проучване Hou et. al. (2018) демонстрират, че бионаличността на RIPK3 в митохондриите, взаимодействия с MQC-свързан протеин Dgri1, за да регулира структурата и функцията на митохондриите и по този начин насърчава развитието на кардиомиоцитна некроптоза след исхемично/реперфузионно увреждане (13). Други учени установяват, че аденовирусите са способни да увеличат експресията на RIPK3 в кардиомиоцитите и да индуцират некроптоич-

на клетъчна смърт. Интерес представлява фактът, че този ефект е независим от RIPK1 и MLKL. Именно проучвани на Zhou H et.al. (2020) установяват, че Ca^{2+} /калмодулин-зависимата протеин киназа II δ (CaMKII δ) (медиатор на mPTP-медирана некроза) изпъква като една нова прицелна молекула на RIP3. Фармакологичното инхибиране на CaMKII блокира отварянето на mPTP и предотвратява кардиомиоцитна смърт, свързана със свръхекспресията на RIPK3 (41). Сърдечната недостатъчност е сложен клиничен синдром, резултат на структурни или функционални увреждания на сърдечната мускулатура. Szobi et al. (2017) демонстрират повишена експресия на ключовите медиатори на некроптоза като RIPK1, RIPK3 и MLKL, както и техните фосфорилирани форми, в човешки сърца със сърдечна недостатъчност, в сравнение със здравите контроли. Освен регулаторните протеини за некроптоза TNF α също подлежи на регулация нагоре (upregulation) в миокарда след обемно натоварване или миокарден инфаркт (11). Според други учени плазмената концентрация на RIPK3 при пациенти със сърдечна недостатъчност е значително по-висока от тази на здрави индивиди и повишаването на плазмения RIPK3 е предиктор за лоша прогноза при пациенти със сърдечна недостатъчност (14). Атеросклерозата представлява патологично състояние и основен рисков фактор за ССЗ, които са водещата причина за заболяемост и смъртност в глобален аспект. Различни проучвания установяват, че некроптозата може да стимулира възпалителния отговор и развитието на атеросклероза. RIPK3-MLKL некроптоичният път е свързан и с развитието на ендотелна дисфункция и атеросклероза. Оксидираните липопротеини с ниска плътност (oxLDL) са в състояние да регулират RIP3 и свързаната с oxLDL генна експресия в макрофагите, водещо до некроптоза на макрофагите (17), което предизвиква възпалителен отговор и образуване на атерома. В сравнение с нормалните артерии експресията на RIP3 и MLKL и РНК е значително повишена в напреднали атеросклеротични плаки, а мишки с RIP3-/- са защитени от развитието на атеросклероза. Освен това некроптозата е свързана и със смъртта на пенестите клетки, което от своя страна утежнява прогресията на заболяването (17). Тези резултати предполагат, че инхибирането на некроптозата може да бъде терапевтична възможност за лечение и на атеросклероза.

Инхибитори на некроптоза в клиничната практика

Първите селективни инхибитори на некроптоза, т.нар. некростатини (Nec), са идентифицирани с помощта на клетъчно базиран скрининг на TNF α -индуцирана некроптоза в човешка U937 моноцитна клетъчна линия (6). Основният молекулен механизъм на този защитен ефект е блокиране на некроптозата чрез насочване към прицелната молекула RIPK1. Всъщност Nec-1 не само инхибира RIPK1, но също така намалява експресията и фосфорилирането на RIP3, което е демонстрирано в много модели на заболявания като инфаркт на миокарда, атеросклероза, инсулт, хронични бъбречни заболявания и др. (табл. 2).

След откриването на некростатин-1 (Nec-1) много генетични и химични изследвания са довели до идентифицирането на различни форми на програмирана некроза, включително некроптоза, фероптоза, митоптоза, пироптоза, ентоза и др., които са тясно свързани с развитието на различни възпалителни и автоимунни заболявания

(19,5). По-задълбочени изследвания демонстрираха важната роля на Nec-1 за предотвратяване на некротичната клетъчна смърт и неблагоприятно сърдечно ремоделиране при исхемично-реперфузионния синдром чрез насоченото инхибиране на RIPK1 (31).

За да изследват потенциалната роля на некроптозата при човешките заболявания, изследователите са разработили различни методи като генно нокдаун и нокаут модифициране и въвеждане на фармакологични инхибитори. Като основни съставни части на некрозомата RIPK1, RIPK3 и MLKL са най-атрактивните таргети на фармакологичните инхибитори.

Киназната активност на RIPK1, която може да индуцира автофосфорилиране и конформационни промени в клетката, е от решаващо значение за активирането на каспазите, образуването на некрозома и изпълнението на различните модалности на клетъчна смърт, включително апоптоза, пироптоза и некроптоза (4). Блокирането на RIPK3 произхожда и от факта, че е свързан и с други клетъчни пътища като

Табл. 2. Схематично представяне на някои субстанции и фармакологични агенти, инхибиращи некроптозата

Инхибитор на некроптоза	Ефекти
Некростатин 1	Атеросклероза - Nec-1 намалява размера на лезията и маркерите за нестабилност на атеросклеротичната плака при Apoe(-/-) мишки с атеросклероза (17)
Некростатин 1	Исхемично-реперфузионен синдром - Nec-1 намалява некрозата на кардиомиоцитите и подобрява сърдечния дебит (40)
Некростатин 1	Миокардит - Nec-1 предпазва кардиомиоцитите от увреда чрез понижаване на експресията на RIP1/RIP3 в миши модел на индуциран от CVB3 миокардит (42)
Некростатин 1	Инфаркт на миокарда - Nec-1 инхибира некроптозата на миокардната тъкан и подобрява сърдечната функция при модели на остър МИ на плъх (25)
Некростатин 1	Исхемичен инсулт - Предварителният прием на Nec-1 насърчава оцеляването на олигодендроцитни прекурсорни клетки, намалява увреждането на бялото вещество и подобрява когнитивната функция след преходна церебрална исхемия (3)
Некростатин 1	Остра бъбречна увреда - Nec-1 потиска некроптозата, подобрява бъбречната функция и защитава бъбречните тубулни епителни клетки (8)
Некростатин 1	Остра чернодробна недостатъчност - Nec-1 предпазва от клетъчна увреда и облекчава хепатотоксичността при миши модел с остра чернодробна недостатъчност, индуцирана от d-галактозамин/LPS или ацетаминофен (19)
Rapamycin	Рестеноза на коронарни артерии, отлепване на ретина - Рапамицинът насърчава активирането на автофагията чрез индуцирането на beclin-1 и LC-3 и инхибира z-vad-fmk-индуцираната некроптоза чрез инхибиране на RIP-1 експресията (7)
Cyclosporin A	Исхемично-реперфузионен синдром - CsA, води до частично, но значително намаляване на маркерите за некроптоза, RIP1 и RIP3 (9)
ZYZ-803 (Прицелна молекула RIP3)	Остра миокардна исхемия - ZYZ-803 инхибира (RIP3-) Ca ²⁺ + -калмодулин-зависима протеин киназа (CaMKII) (2)
Zharp-99 (Прицелна молекула RIP3)	Възпалителни заболявания - Zharp-99 директно блокира киназната активност на RIPK3, упражнява ефективна защита срещу синдрома на системен възпалителен отговор, индуциран от TNF- α , в миши модел (38)

апоптоза, активиране на инфлазомата, индукция на провъзпалителни гени (23) и синтез на възпалителни медиатори и цитокини (15). Освен некростатин-1 са разработени още множество фармакологични агенти (табл. 2), които инхибират некроптозата по различни пътища. Някои RIPK инхибитори участват в клинични изпитвания за лечение на ревматоиден артрит, улцерозен колит и псориазис, подобно на анти-TNF (тумор некрозис фактор) блокиращи стратегии. Смята се, че инхибиторите на RIPK киназите могат да формират алтернативно лечение за пациенти, които не отговарят или показват неблагоприятни ефекти към анти-TNF-а лечението (27).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Всички познати форми на клетъчна смърт представляват един сложен и контролиран клетъчен процес, който допринася за развитието, целостта на тъканите, елиминиране на увредените клетки и поддържане на хомеостазата в многоклетъчните организми. Съответно дисрегулацията на сигналните пътища, които предизвикват клетъчна смърт, може да доведе до развитие на катастрофални заболявания - такива с потисната клетъчна смърт (като злокачествени и автоимунни заболявания, както и дегенеративни и възпалителни заболявания (от потенцирана клетъчна смърт). Некроптозата е вид клетъчна смърт, медирана от рецепторите на смъртта и рецептор-взаимодействащите протеин кинази (RIPK1 и RIPK3) и киназия домейн-подобен протеин (MLKL) под действието на различни смъртоносни стимули, инициирани от исхемично-реперфузионен синдром, митохондриална дисфункция, липидна пероксидация, имуноен отговор или възпаление. Редица доказателства сочат, че некроптозата е замесена в патогенезата на ССЗ като инфаркт на миокарда, атеросклероза, сърдечна недостатъчност и др. RIPK3 се очертава като независим таргет и медиатор на некроптоза в кардиомиоцитите, сърдечно ремоделиране, активиране и синтез на провъзпалителни медиатори и цитокини, демонстрирано в модели на заболявания и селективна инхибиция. Независимо че познанията ни за участието и въздействието на некроптозата са все още ограничени, разработването на нови терапии, базирани на RIPK3 инхибиране, се очертава като бъдеща алтернатива при разработването на нови лекарства и подходи за лечение на ССЗ, в чиято патогенеза участва тази форма на програмирана клетъчна смърт.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aggarwal BB. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol.* 2003 Sep;3(9):745-56. doi: 10.1038/nri1184.
2. Chang L, Wang Z, Ma F, Tran B, Zhong R, Xiong Y, et al. ZYX-803 Mitigates Endoplasmic Reticulum Stress-Related Necroptosis after Acute Myocardial Infarction through Downregulating the RIP3-CaMKII Signaling Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2019 Jun 2;2019:6173685. doi: 10.1155/2019/6173685.
3. Chen Y, Zhang L, Yu H, Song K, Shi J, Chen L, et al. Necrostatin-1 improves long-term functional recovery through protecting oligodendrocyte precursor cells after transient focal cerebral ischemia in mice. *Neuroscience.* 2018; 371:229-241. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.12.007.
4. Cho Y, Challa S, Moquin D, Genga R, Ray TD, et al. Phosphorylation-Driven Assembly of the RIP1-RIP3 Complex Regulates Programmed Necrosis and Virus-Induced Inflammation. *Cell* 2009, 137 (6), 1112-1123. 10.1016/j.cell.2009.05.037.
5. Choi, ME, Price, Ryter S, W. & Choi, et al. Necroptosis: a crucial pathogenic mediator of human disease. *JCI Insight* 4, e128834 (2019).
6. Degterev A, Huang Z, Boyce M, Li Y, Jagtap P, et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol.* 2005;1:112-9.
7. Ding J, Yang N, Yan Y, Wang Y, Wang X, Lu L, et al. Rapamycin Inhibited Photoreceptor Necroptosis and Protected the Retina by Activation of Autophagy in Experimental Retinal Detachment. *Curr Eye Res.* 2019 Jul;44(7):739-745. doi: 10.1080/02713683.2019.1588331.
8. Dong W, Li Z, Chen Y, Zhang L, Ye Z, Liang H, et al. Necrostatin-1 attenuates sepsis-associated acute kidney injury by promoting autophagosome elimination in renal tubular epithelial cells. *Mol. Med. Rep.* 2018; 17:3194-3199. doi: 10.3892/mmr.2017.8214.
9. Fakharnia F, Khodaghali F, Dargahi L, Ahmadiani A. Prevention of Cyclophilin D-Mediated mPTP Opening Using Cyclosporine-A Alleviates the Elevation of Necroptosis, Autophagy and Apoptosis-Related Markers Following Global Cerebral Ischemia-Reperfusion. *J Mol Neurosci.* 2017 Jan;61(1):52-60. doi: 10.1007/s12031-016-0843-3.
10. Fang X, Wang H, Han D, Xie E, Yang X, Wei J, et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 116: 2672-2680, 2019. doi:10.1073/pnas.1821022116.
11. Guo J, Huang X, Dou L, Yan M, Shen T, Tang W, et al. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and

- treatments. *Signal Transduct Target Ther*. 2022 Dec 16;7(1):391. doi: 10.1038/s41392-022-01251-0.
12. Han, JH, Park, J, Kang, T. B. & Lee, K. H. Regulation of caspase-8 activity at the crossroads of pro-inflammation and anti-inflammation. *Int. J. Mol. Sci*. 22, 3318 (2021).
13. Hou H, Wang Y, Li Q, Li Z, Teng Y, Li J, et al. The role of RIP3 in cardiomyocyte necrosis induced by mitochondrial damage of myocardial ischemia-reperfusion. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2018 Nov 1;50(11):1131-1140. doi: 10.1093/abbs/gmy108.
14. Hu X, Li H, Chen X, et al. Plasma concentration of receptor-interacting protein kinase-3 as a potential biomarker for diagnosis and prognosis in heart failure. *Clinica Chimica Acta* . 2020;509:273–279. doi: 10.1016/j.cca.2020.06.039.
15. Jayakumar A, Bothwell A. L. M. RIPK3-Induced Inflammation by I-MDSCs Promotes Intestinal Tumors. *Cancer Res*. 2019, 79 (7), 1587. 10.1158/0008-5472.CAN-18-2153.
16. Jun W, Benjanuwattra J, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Necroptosis in renal ischemia/reperfusion injury: A major mode of cell death? *Arch Biochem Biophys*. 2020 Aug 15;689:108433. doi: 10.1016/j.abb.2020.108433.
17. Karunakaran D, Geoffrion M, Wei L, Gan W. Targeting macrophage necroptosis for therapeutic and diagnostic interventions in atherosclerosis. *Sci. Adv*. 2016;2 doi: 10.1126/sciadv.1600224.
18. Kawaguchi M, Takahashi M, Hata T, Kashima Y, Usui F, Morimoto H, et al. Inflammasome activation of cardiac fibroblasts is essential for myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 123: 594–604, 2011. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.982777.
19. Kim SJ, Lee S.M. Necrostatin-1 protects against D-Galactosamine and lipopolysaccharide-induced hepatic injury by preventing TLR4 and RAGE signaling. *Neurochem. Res*. 2017;40:1912–1923. doi: 10.1007/s10753-017-0632-3.
20. Kim SH, Chang JW, Kim SB, Park SK, Park JS, Lee SK. Myoglobin induces vascular cell adhesion molecule-1 expression through c-Src kinase-activator protein-1/nuclear factor-kappaB pathways. *Nephron Exp Nephrol*. 2010;114:e48–60.2
21. Kleinbongard P, Schulz R, Heusch G, TNF α in myocardial ischemia/reperfusion, remodeling and heart failure, *Heart Fail. Rev* 16 (2011) 49–69. [PubMed: 20571888]
22. Krüger M, Richter P. To Die or Not to Die: Cell Death in Biology and Disease. *Int. J. Mol. Sci*. 2022, 23, 6734. <https://doi.org/10.3390/ijms23126734>
23. Lawlor K E, Khan N, Mildenhall A, Gerlic M, Croker BA, D'Cruz A, et al. RIPK3 promotes cell death and NLRP3 inflammasome activation in the absence of MLKL. *Nat. Commun*. 2015, 6 (1), 6282.
24. Lee P, Sata M, Lefer DJ, Factor SM, Walsh K, Kitsis RN. Fas pathway is a critical mediator of cardiac myocyte death and MI during ischemia-reperfusion in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H456–H463, 2003. doi:10.1152/ajpheart.00777.2002.
25. Liu YR, Xu HM. Protective effect of necrostatin-1 on myocardial tissue in rats with acute myocardial infarction. *Genetics Mol. Res.: GMR*. 2016;15 doi: 10.4238/gmr.15027298.
26. Luedde M, Lutz M, Carter N, Sosna J, Jacoby C, Vucur M, et al. RIP3, a kinase promoting necroptotic cell death, mediates adverse remodelling after myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 2014; 103:206–216. doi: 10.1093/cvr/cvu146.
27. Martens S, Hofmans S, Declercq W, Augustyns K, Vandenabeele P. Inhibitors Targeting RIPK1/RIPK3: Old and New Drugs. *Trends Pharmacol Sci*. 2020 Mar;41(3):209-224. doi: 10.1016/j.tips.2020.01.002.
28. Matsui Y, Takagi H, Qu X, Abdellatif M, Sakoda H, Asano T, et al. Distinct roles of autophagy in the heart during ischemia and reperfusion: roles of AMP-activated protein kinase and Beclin 1 in mediating autophagy. *Circ Res* 100: 914–922, 2007. doi:10.1161/01.RES.0000261924.76669.36.
29. Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes *Cell*, 114 (2003), pp. 181-190
30. Nakagawa T, Shimizu S, Watanabe T, Yamaguchi O, Otsu K, Yamagata H, et al. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. *Nature* 2005; 434:652–658. doi: 10.1038/nature03317.
31. Oerlemans MI, Liu J, Arslan F, et al. Inhibition of RIP1-dependent necrosis prevents adverse cardiac remodeling after myocardial ischemia-reperfusion in vivo. *Basic Res Cardiol*. 2012;107:270.
32. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019: update from the GBD 2019 Study. *J Am College Cardiol*. (2020) 76:2982–3021. doi: 10.1016/j.jacc.2020.11.010
33. Seo J, Nam YW, Kim S, Oh DB, Song J. Necroptosis molecular mechanisms: recent findings regarding novel necroptosis regulators. *Exp Mol Med*. 2021; 53:1007–17.
34. Shojaie L, Iorga A, Dara L. Cell death in liver diseases: A review. *Int J Mol Sci* (2020) 21:9682. doi: 10.3390/ijms21249682
35. Szobi A, Gonçalvesová E, Varga ZV. et al. Analysis of necroptotic proteins in failing human

- hearts. J Transl Med 15, 86 (2017). <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1189-5>
36. Thorburn A. Death receptor-induced cell killing. Cell Signal. 2004 Feb;16(2):139-44. doi: 10.1016/j.cellsig.2003.08.007.
37. Vandenabeele P, Galluzzi L, Vanden Berghe T, Kroemer G. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 11 (2010), pp. 700-714
38. Xia K, Zhu F, Yang C, Wu S, Lin Y, Ma H, et al. Discovery of a Potent RIPK3 Inhibitor for the Amelioration of Necroptosis-Associated Inflammatory Injury. Front Cell Dev Biol. 2020 Dec 8;8:606119. doi: 10.3389/fcell.2020.606119.
39. Yuan J, Amin P, Ofengeim D. Necroptosis and RIPK1-mediated neuroinflammation in CNS diseases. Nat Rev Neurosci. 2019 Jan;20(1):19-33. doi: 10.1038/s41583-018-0093-1.
40. Zhang A, Mao X, Li L, Tong Y, Huang Y, Lan Y, Jiang H. Necrostatin-1 inhibits Hmgb1-IL-23/IL-17 pathway and attenuates cardiac ischemia reperfusion injury. Transplant Int. 2014;27:1077–1085. doi: 10.1111/tri.12349.
41. Zhang T, Zhang Y, Cui M, Jin L, Wang Y, Lv F, et al. CaMKII is a RIP3 substrate mediating ischemia- and oxidative stress-induced myocardial necroptosis. Nat Med 22: 175–182, 2016. doi:10.1038/nm.4017.
42. Zhou F, Jiang X, Teng L, Yang J, Ding J, He C. Necroptosis may be a novel mechanism for cardiomyocyte death in acute myocarditis. Mol. Cell. Biochem. 2018;442:11–18. doi: 10.1007/s11010-017-3188-5.
43. Zhou H, Liu L, Ma X, Wang J, Yang J, Zhou X, et al. RIP1/RIP3/MLKL-mediated necroptosis contributes to vinblastine-induced myocardial damage. Mol Cell Biochem. 2021 Feb;476(2):1233-1243. doi: 10.1007/s11010-020-03985-3.

Адрес за кореспонденция:

Камелия Братоева
Катедра „Физиология и патофизиология“
ул. „Проф. Марин Дринов“ 55
Варна, 9000
e-mail: kamelia.bratoeva@mu-varna.bg