

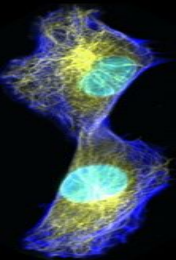
# ПРИДНЕСТРОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Т.Г.ШЕВЧЕНКО

МЕДИЦИНСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ  
КАФЕДРА ФИЗИОЛОГИИ И ФАРМАКОЛОГИИ

«АПОПТОЗ»

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

*Тирасполь, 2010*



Апоптоз: учебное пособие/Составитель: Урсан Р.В. – Тирасполь, 2010  
Данное пособие включило в себя одну из сложных проблем экспериментальной физиологии – апоптоз. Подробно освещены современные воззрения на механизмы запуска и реализации этого типа смерти клетки, а также возможности и пути использования индуцированного апоптоза в клинической медицине. Кроме того, содержится разнообразный демонстрационный материал

Составитель:

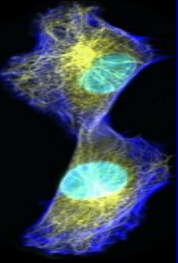
Урсан Р.В., преподаватель кафедры физиологии и фармакологии.

Рецензенты:

Гарбуз Л.И., к.б.н., доцент, зав. кафедрой биологии, микробиологии и функциональной гистоморфологии

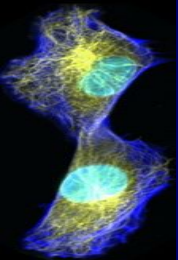
Окушко Р.В., к.м.н., доцент, зав.кафедрой терапии №2

©Р.В.Урсан, 2010



# Зачем гибнет клетка???

1. Клетка выполнила свою функцию и стала ненужной организму
2. Клетка исчерпала лимит Хейфлика (клетка состарилась, выполнив лимит делений) и больше не может выполнять свои функции
3. Клетка подверглась воздействию факторов (внешних или внутренних) и больше не может выполнять свои функции или стала опасной для организма (опухолевая трансформация)

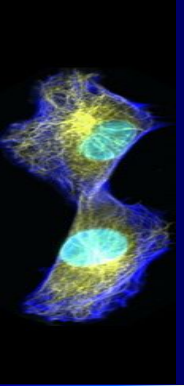


# Апоптоз это **НЕ** запрограммированная клеточная смерть

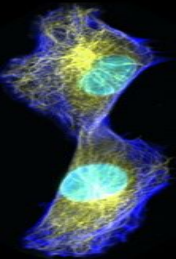
Апоптоз и запрограммированная клеточная смерть – разные понятия.

Запрограммированная клеточная смерть имеет место в условиях физиологической нормы (процесс эмбриогенеза, обновление эпителиальных тканей, гемопоэз и др.) – см. пункт 1 и 2 на предыдущем слайде. Запрограммированная клеточная смерть осуществляется в клетке без участия каспаз

Апоптоз осуществляется с помощью каспазного каскада – целого ряда ферментов (каспаз), которые активирует «машину смерти клетки». Запускается в условиях патологии, при внешних и внутренних воздействиях. Обязательное условие – достаточное количество АТФ

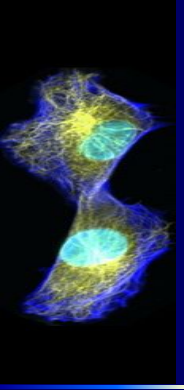


# ΑΠΟΠΤΟΣ



# Определение апоптоза согласно рекомендации Комитета по номенклатуре клеточной смерти (2009 год)

Апоптоз - клеточная смерть со специфическими морфологическими проявлениями: уменьшение клеточного объема, конденсация хроматина, фрагментация ядра, отсутствием/минимальными изменениями клеточных органелл, образование пузырей из клеточной мембраны (апоптотических телец) с последующим фагоцитозом (*in vivo*).



# **ИНТЕГРАТИВНАЯ СХЕМА АПОПТОЗА И ЕГО РЕГУЛЯЦИИ**

выход цитохрома

C

из митохондрий  
фактор активирующий  
протеазы апоптоза

лиганд

↓  
рецептор смерти  
на мембране  
клетки

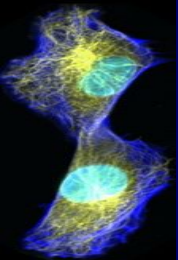
↓  
каспазы-8, -10  
(инициаторы)

↓  
каспаза - 9  
(инициатор)

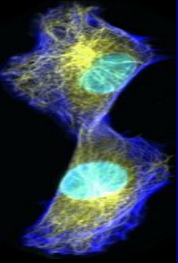
↔  
каспазы-3, -6, -7  
(эфффекторы)

↓  
инактивация клеточных структур



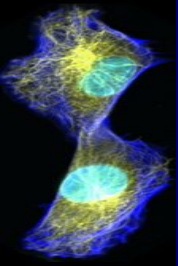


**ДЛЯ АПОПТОЗА  
ХАРАКТЕРНА  
ФАЗНОСТЬ ТЕЧЕНИЯ**



# ТРИ ФАЗЫ АПОПТОЗА:

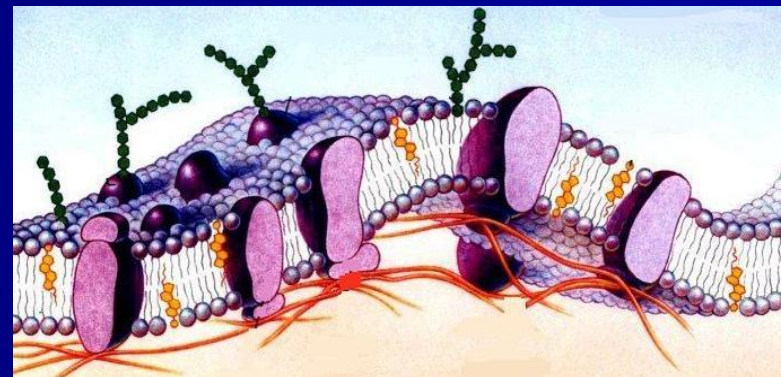
- ФАЗА ИНИЦИАЦИИ
- ЭФФЕКТОРНАЯ ФАЗА
- ФАЗА ДЕГРАДАЦИИ



Фаза инициации –  
рецепция сигнала к апоптозу  
может осуществляться 2  
путями

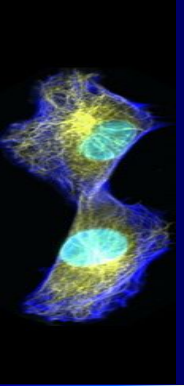
# Два пути запуска эффекторной фазы апоптоза:

мембранный  
(например, линия  
лимфобластных В-клеток SKW  
и Т-клетки линии H9)

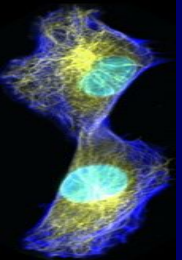


митохондриальный  
(например, линии Т-клеток Jurkat  
и СЕМ, при действии на клетку  
ультрафиолетового и  
ионизирующего излучения)

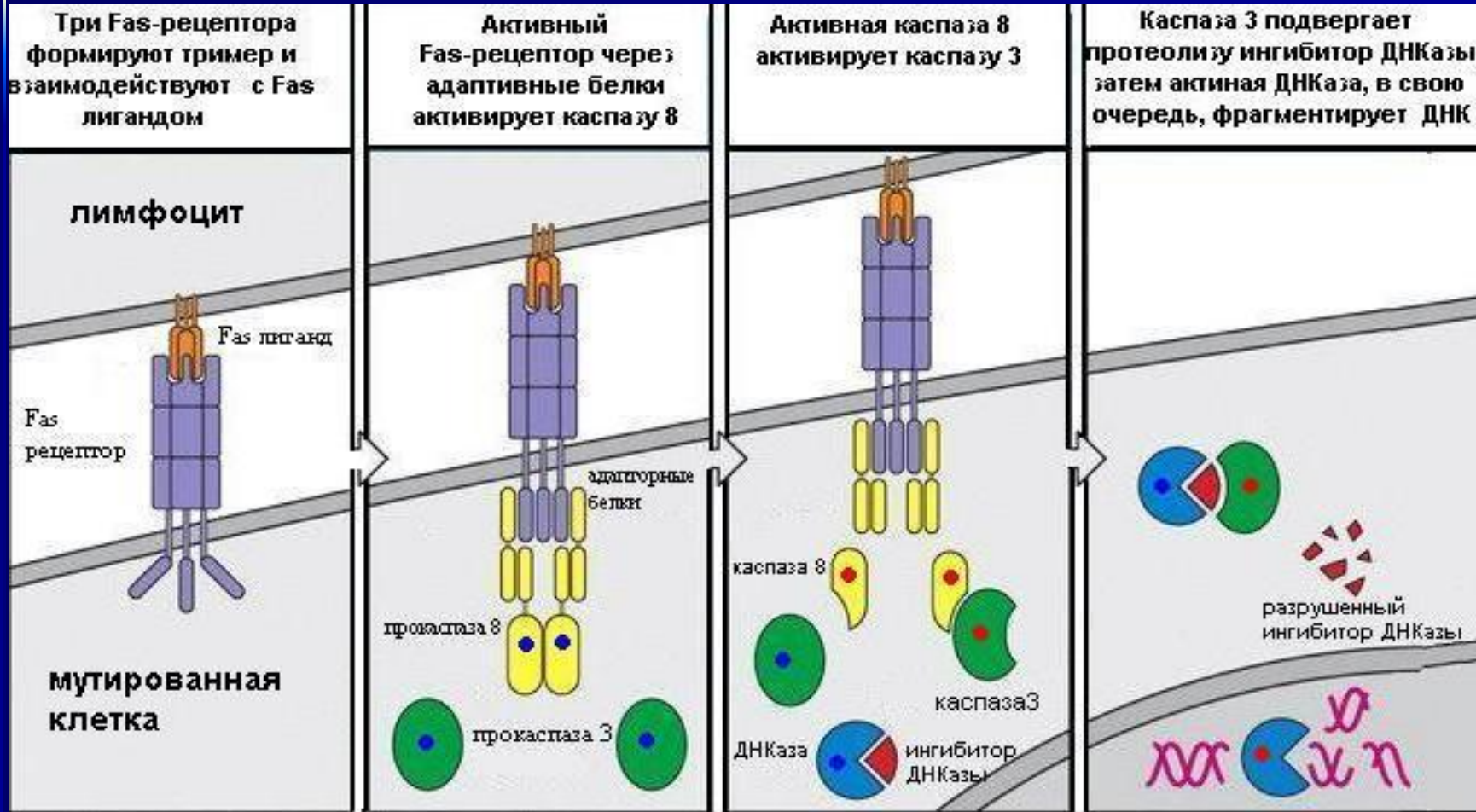




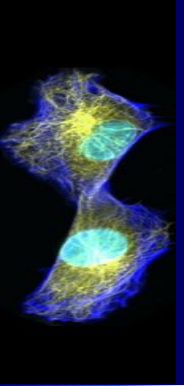
# Мембранный путь активации апоптоза



# Принципиальная схема активации мембранного пути на примере активации Fas рецептора



Синей точкой в центре обозначены неактивные ферменты  
Красной точкой - активные ферменты

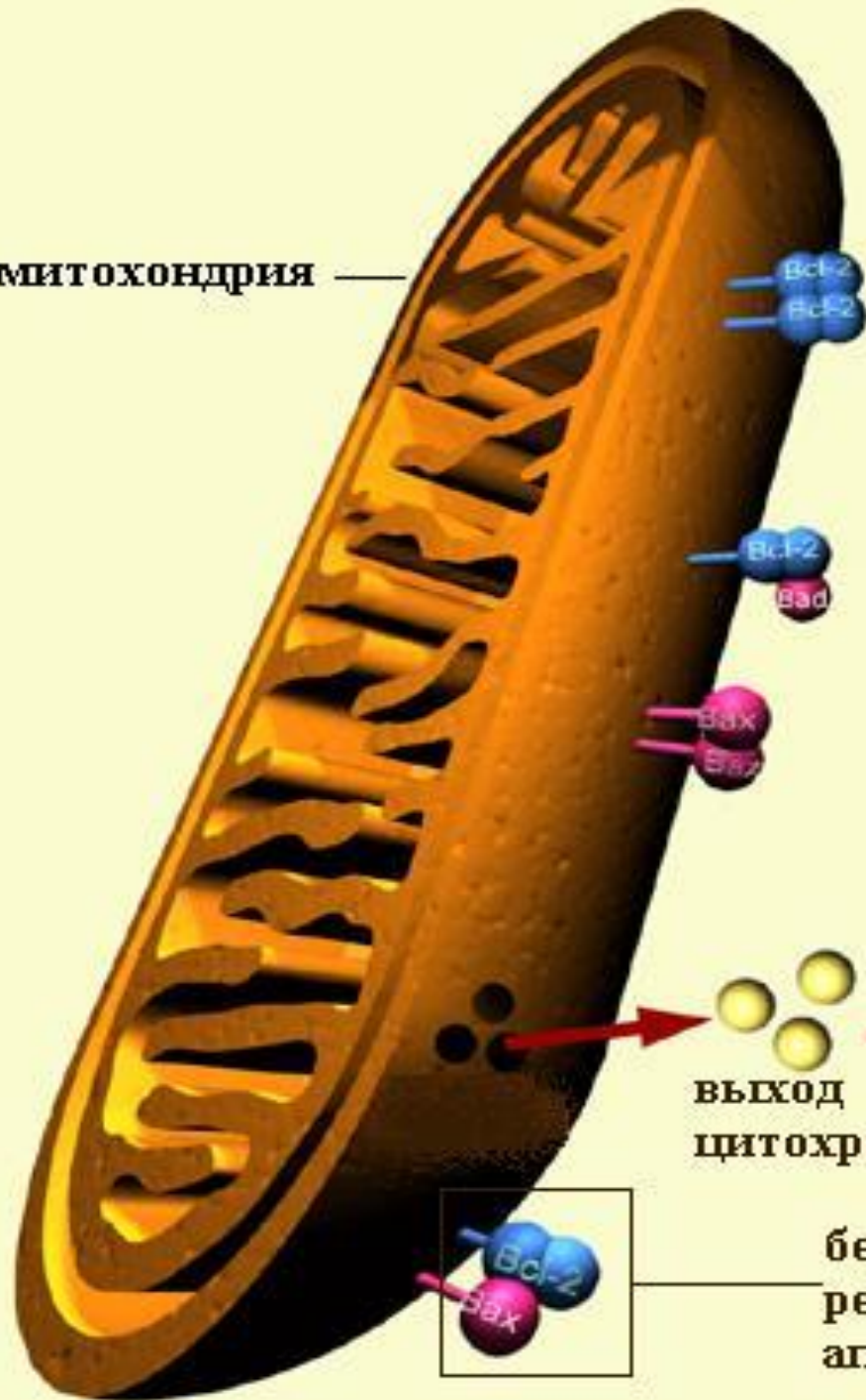


# **Митохондриальный путь активации апоптоза**

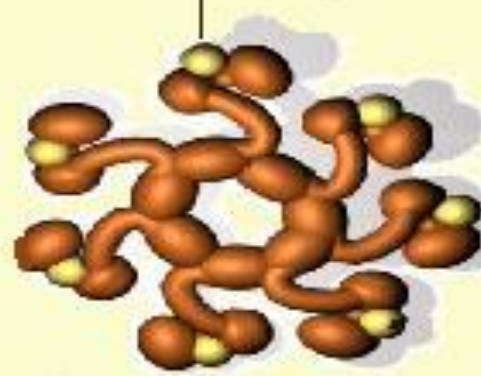




митохондрия



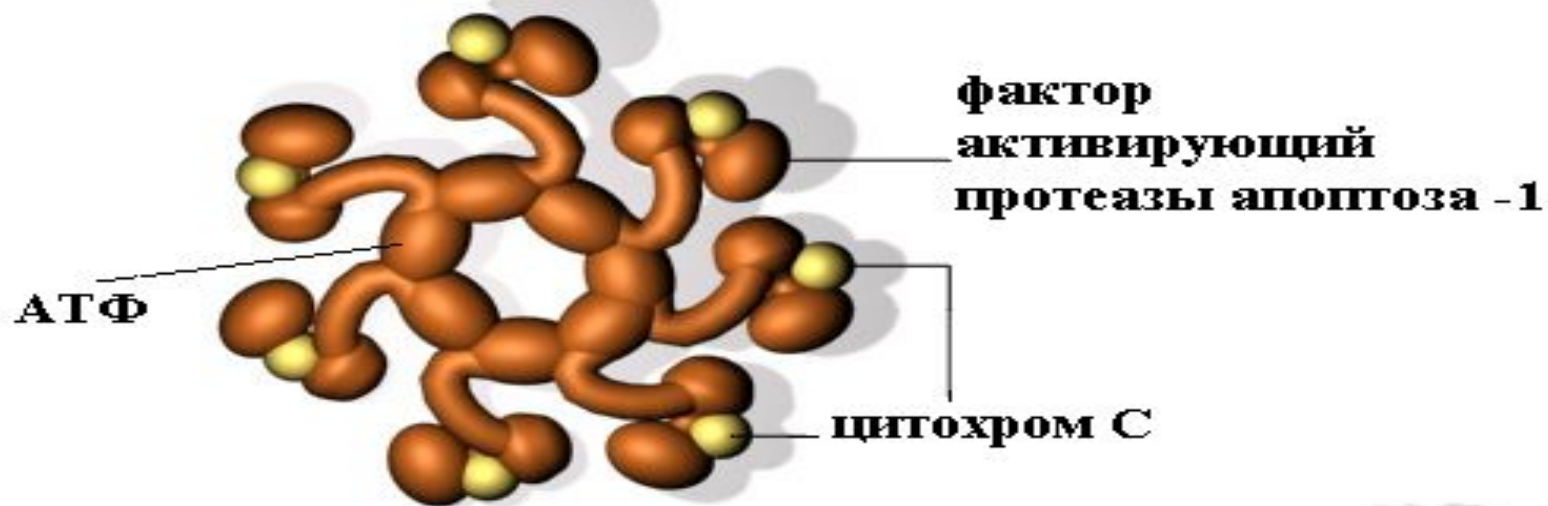
сформированная  
апоптосома  
связывается с  
цитохромом, запуская  
активацию  
прокаспазы 9



выход  
цитохрома С

белки  
регуляторы  
апоптоза

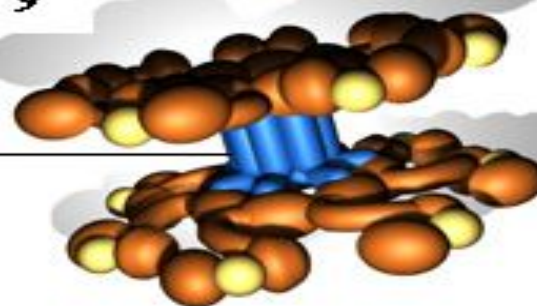
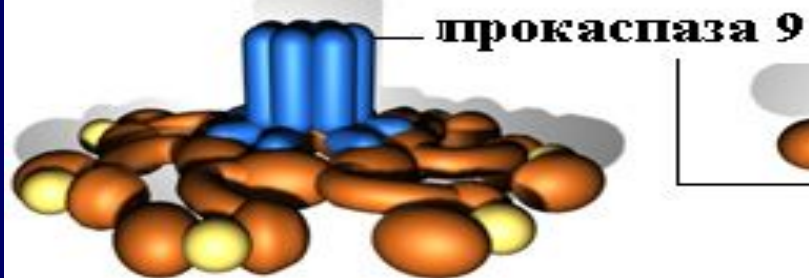
# сформированная апоптосома

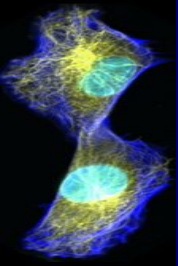


активирование  
прокаспазы 9

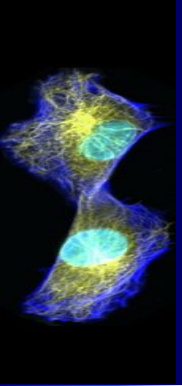


активная каспаза 9



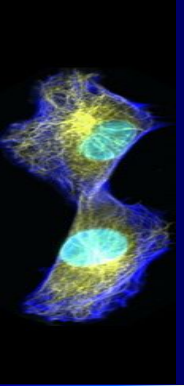


# **Итог митохондриального и мембранного пути активации каспаз**



# Итог митохондриального и мембранного пути активации каспаз

- Оба пути – мембранный и митохондриальные - приводят к активации эффекторных каспаз 3,6,7.
- После активации эффекторных каспаз процесс, запущенный программой смерти, оказывается необратимым.
- Каспазы-3,6,7 способны в дальнейшем к самостоятельной активации (автокатализу или автопроцессингу), активируют ряд других протеаз семейства каспаз, активирует фактор фрагментации ДНК, ведет к необратимому распаду ДНК на нуклеосомальные фрагменты. Так запускается каскад протеолитических ферментов, осуществляющих апоптоз.



# **ДЕСТВИЕ АПОПТИЧЕСКОЙ ДНКазы (рисунок-схема)**

ДНКаза с  
ингибитором

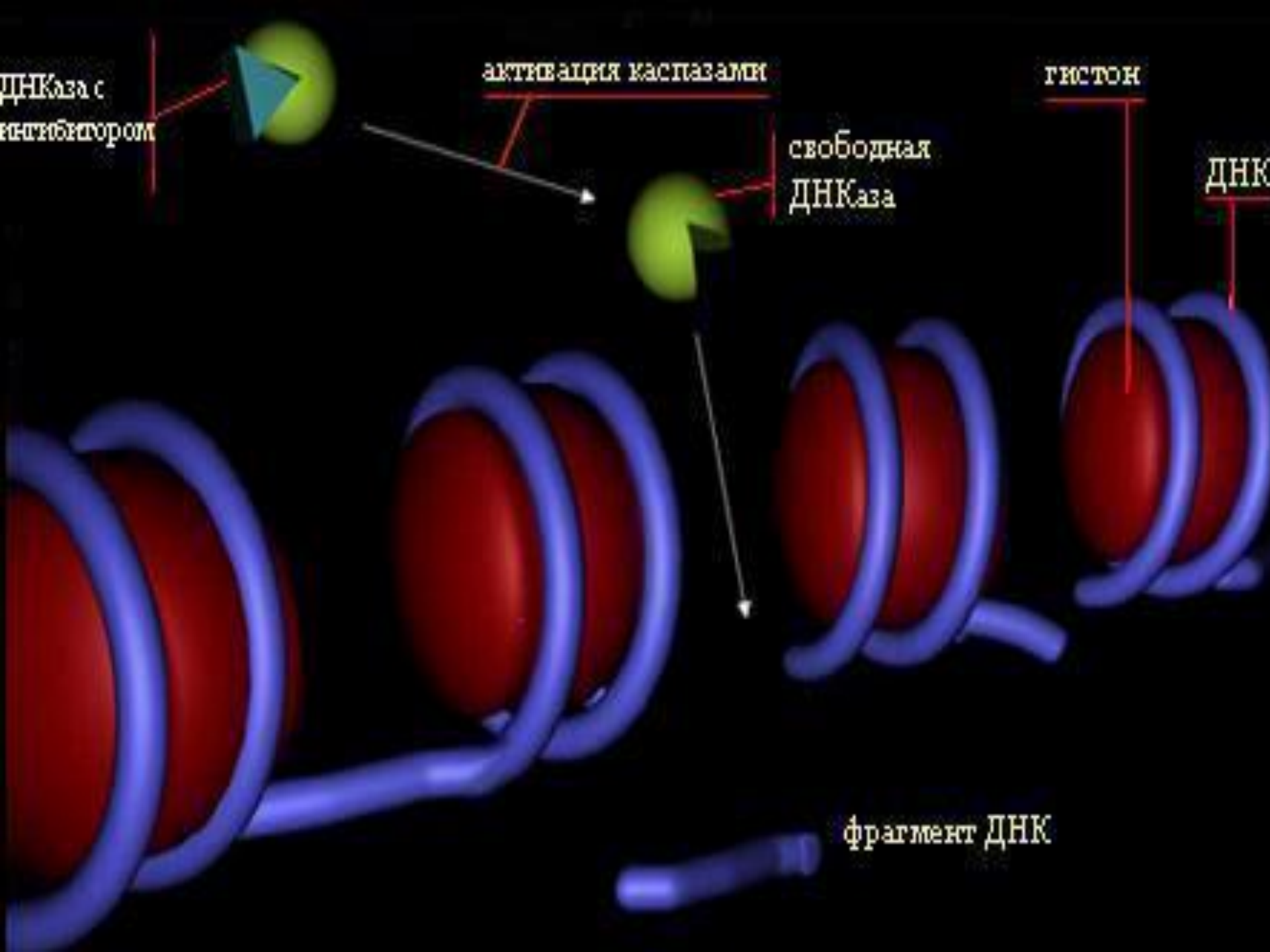
активация каспазами

ГИСТОН

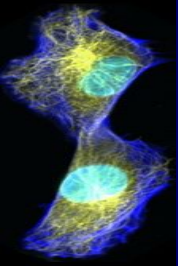
свободная  
ДНКаза

ДНК

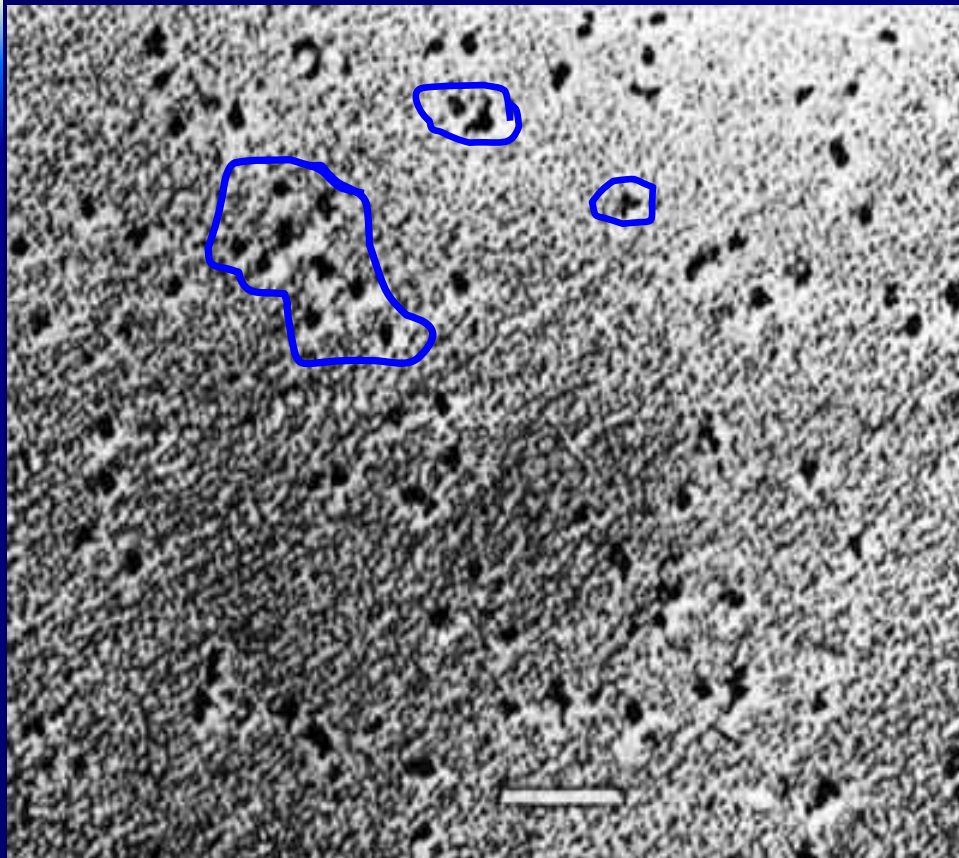
фрагмент ДНК



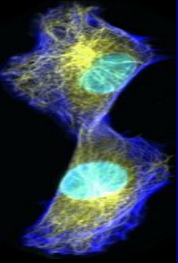




# РЕЗУЛЬТАТ ДЕЙСТВИЯ АПОПТИЧЕСКОЙ ДНКазы



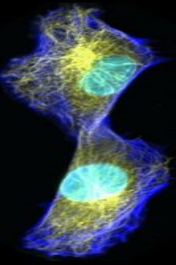
Электронная  
микрофотография  
фрагмента ядра.  
Видны  
фрагментированные  
нуклеосомные  
частицы



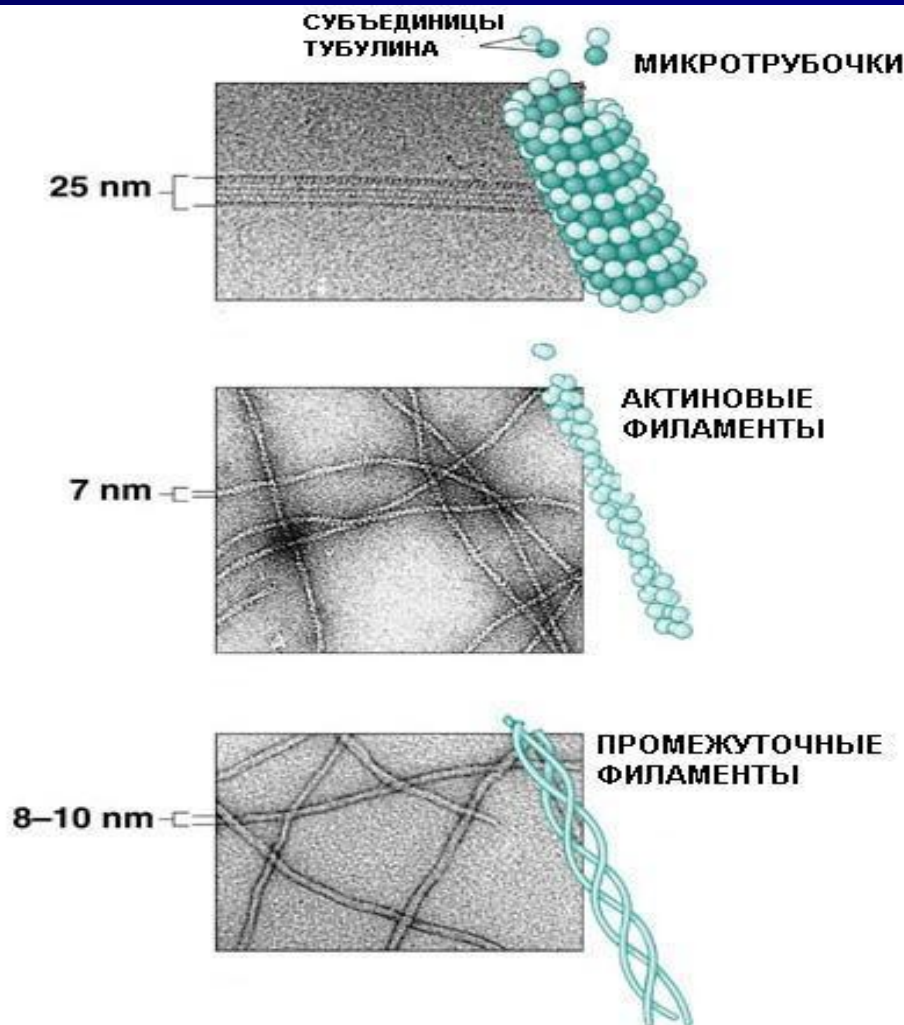
# МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЭФФЕКТОРНЫХ КАСПАЗ

2. Гидролиз белков ламинов, армирующих (укрепляющих) ядерную мембрану. Это способствует конденсации хроматина;

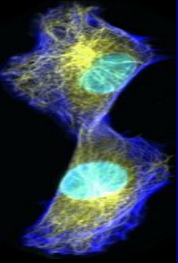




# МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЭФФЕКТОРНЫХ КАСПАЗ

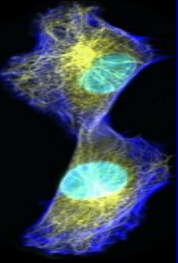


3. Разрушение белков, участвующих в формировании цитоскелета;

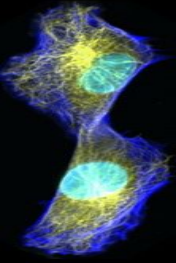


# МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЭФФЕКТОРНЫХ КАСПАЗ

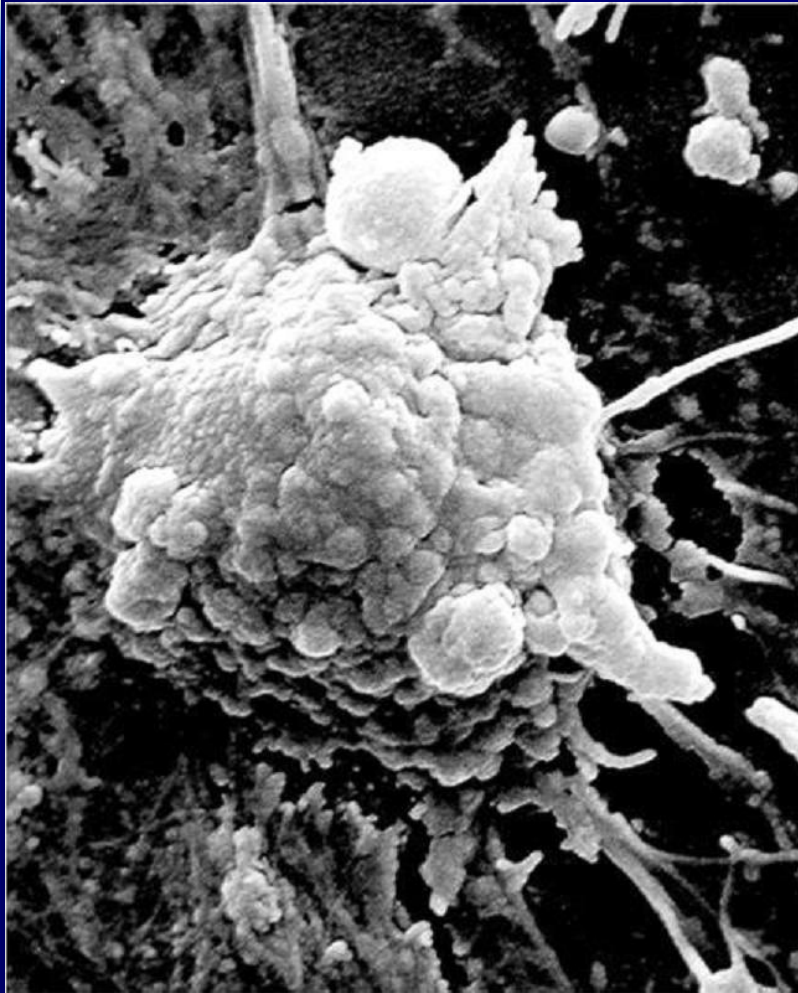
4. Инактивация и нарушение регуляции белков, участвующих в репарации ДНК, сплайсинге мРНК, репликации ДНК.



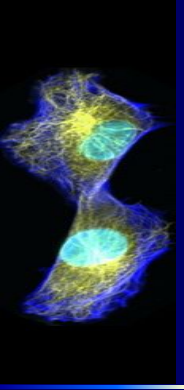
**Последняя фаза апоптоза  
– фаза деградации.**



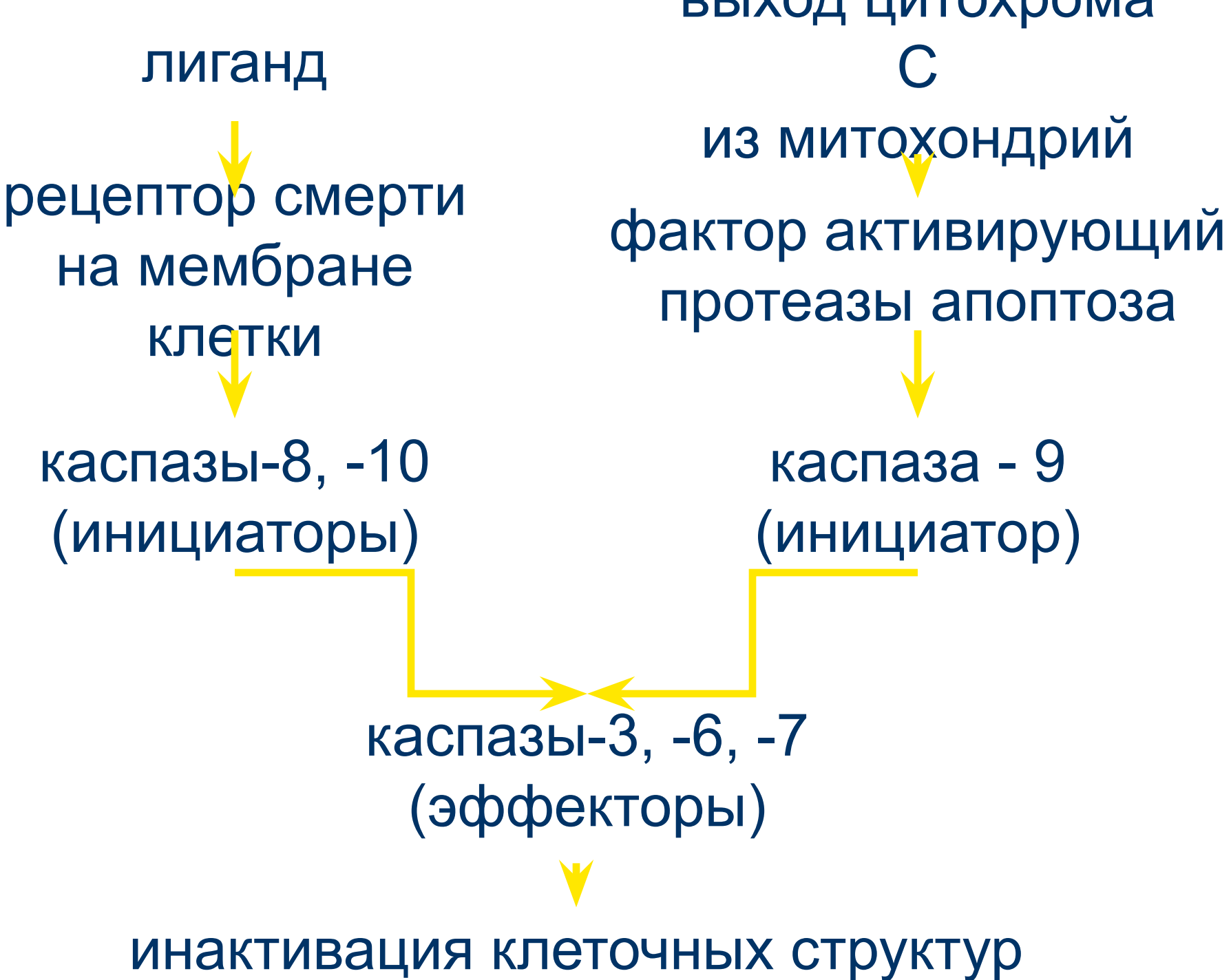
# ФАЗА ДЕГРАДАЦИИ:

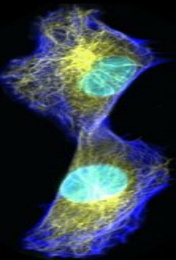


на завершающем этапе происходит появление апоптотических телец: пузырей на поверхности клетки внутри которых находятся упакованный конденсированный хроматин и органеллы. Фагоциты быстро обнаруживают, поглощают и разрушают апоптотические тельца. Благодаря этому содержимое клетки не попадает в интерцеллюлярное пространство, не провоцируется, в отличие от некроза, воспалительная реакция



# **ИНТЕГРАТИВНАЯ СХЕМА АПОПТОЗА И ЕГО РЕГУЛЯЦИИ**



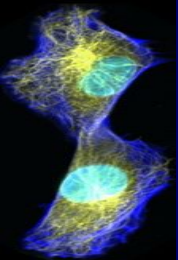


# Различия между апоптозом и некрозом

|  | <b>свойство</b>  | <b>некроз</b> | <b>апоптоз</b> | <b>Запрограммированная смерть</b> |
|--|--|---------------|----------------|-----------------------------------|
|  | Может быть физиологическим явлением  | никогда       | никогда        | всегда                            |
|  | Происходит уменьшение объема клетки  | -             | +              | +                                 |
|  | Контролируемость процесса  | +             | +++            | +++                               |
|  | Нарушение целостности мембран  | +             | -              | -                                 |
|  | Ядро разрушается в последнюю очередь   | +             | -              | -                                 |
|  | Выход лизирующих ферментов в межклеточное пространство, повреждение соседних клеток с развитием воспаления | +             | -              | -                                 |

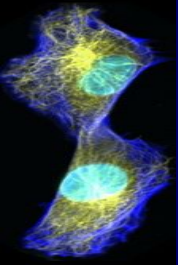
# ПРИЛОЖЕНИЕ



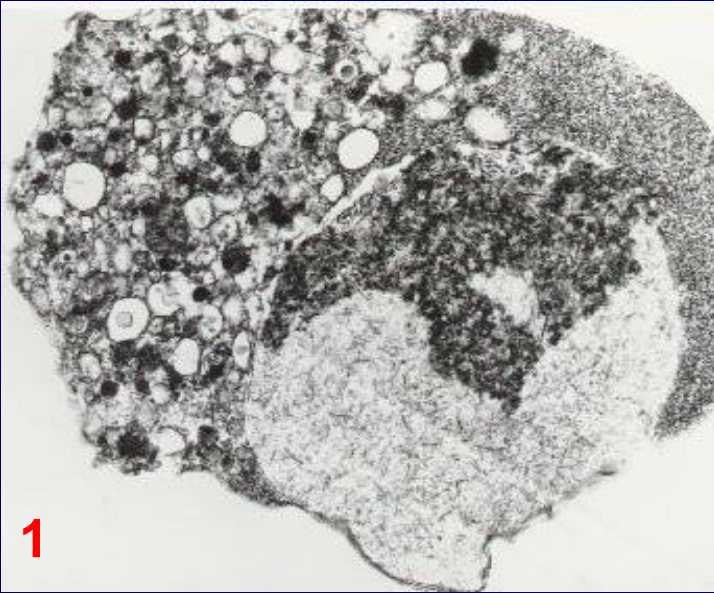


# Зачем нужно знать и понимать апоптоз?

- Ингибирование апоптоза может быть эффективным при лечении сопряженных с клеточной гибелью заболеваний (сахарный диабет, сердечная недостаточность, болезнь Альцгеймера и др).
- Активирование апоптоза при поражении клетки вирусами (напр., ВИЧ), опухолях.



# АПОПТОЗ и некроз (электронная микроскопия)



1- некроз лимфоцита

2- (для сравнения) апоптоз лимфоцита