

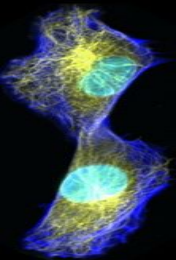
**ПРИДНЕСТРОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Т.Г.ШЕВЧЕНКО**

**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:

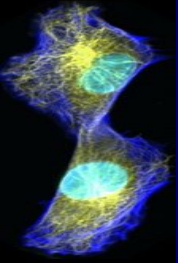
Урсан Р.В., преподаватель кафедры физиологии и фармакологии.

Рецензенты:

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

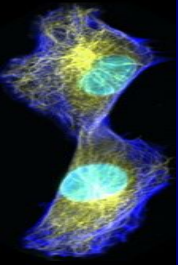
Окушко Р.В., к.м.н., доцент, зав.кафедрой терапии №2

©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)

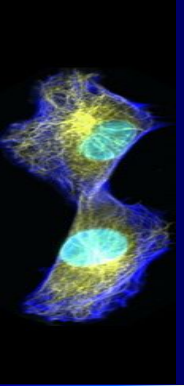


Апоптоз это **НЕ** запрограммированная клеточная смерть

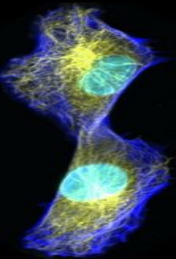
Апоптоз и запрограммированная клеточная смерть – разные понятия.

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

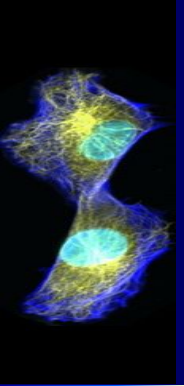


ΑΠΟΠΤΩΣΗ



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

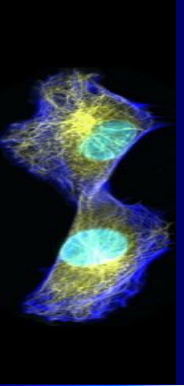
↓
рецептор смерти
на мембране
клетки

↓
каспазы-8, -10
(инициаторы)

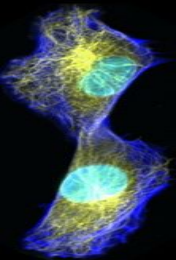
↓
каспаза - 9
(инициатор)

↔
каспазы-3, -6, -7
(эфффекторы)

↓
инактивация клеточных структур

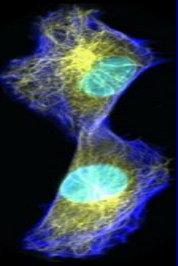


**ДЛЯ АПОПТОЗА
ХАРАКТЕРНА
ФАЗНОСТЬ ТЕЧЕНИЯ**



ТРИ ФАЗЫ АПОПТОЗА:

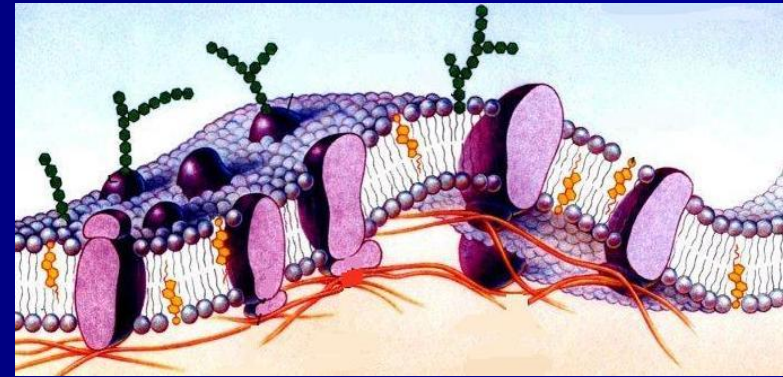
- ФАЗА ИНИЦИАЦИИ
- ЭФФЕКТОРНАЯ ФАЗА
- ФАЗА ДЕГРАДАЦИИ



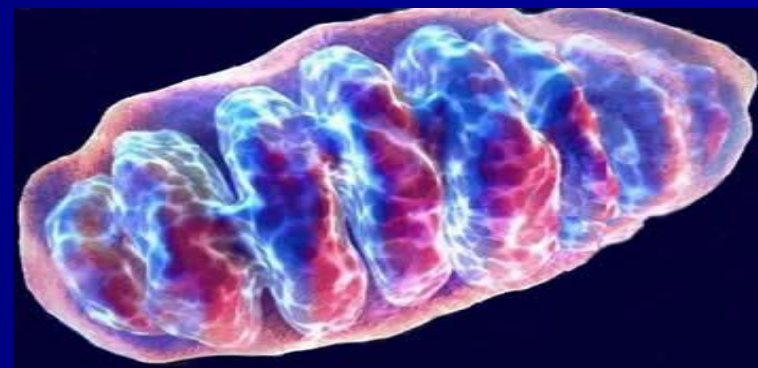
Фаза инициации –
рецепция сигнала к апоптозу
может осуществляться 2
путями

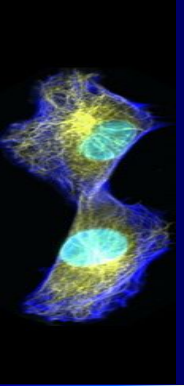
Два пути запуска эффекторной фазы апоптоза:

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

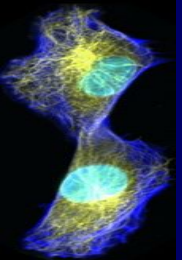


митохондриальный
(например, линии Т-клеток Jurkat
и СЕМ, при действии на клетку
ультрафиолетового и
ионизирующего излучения)

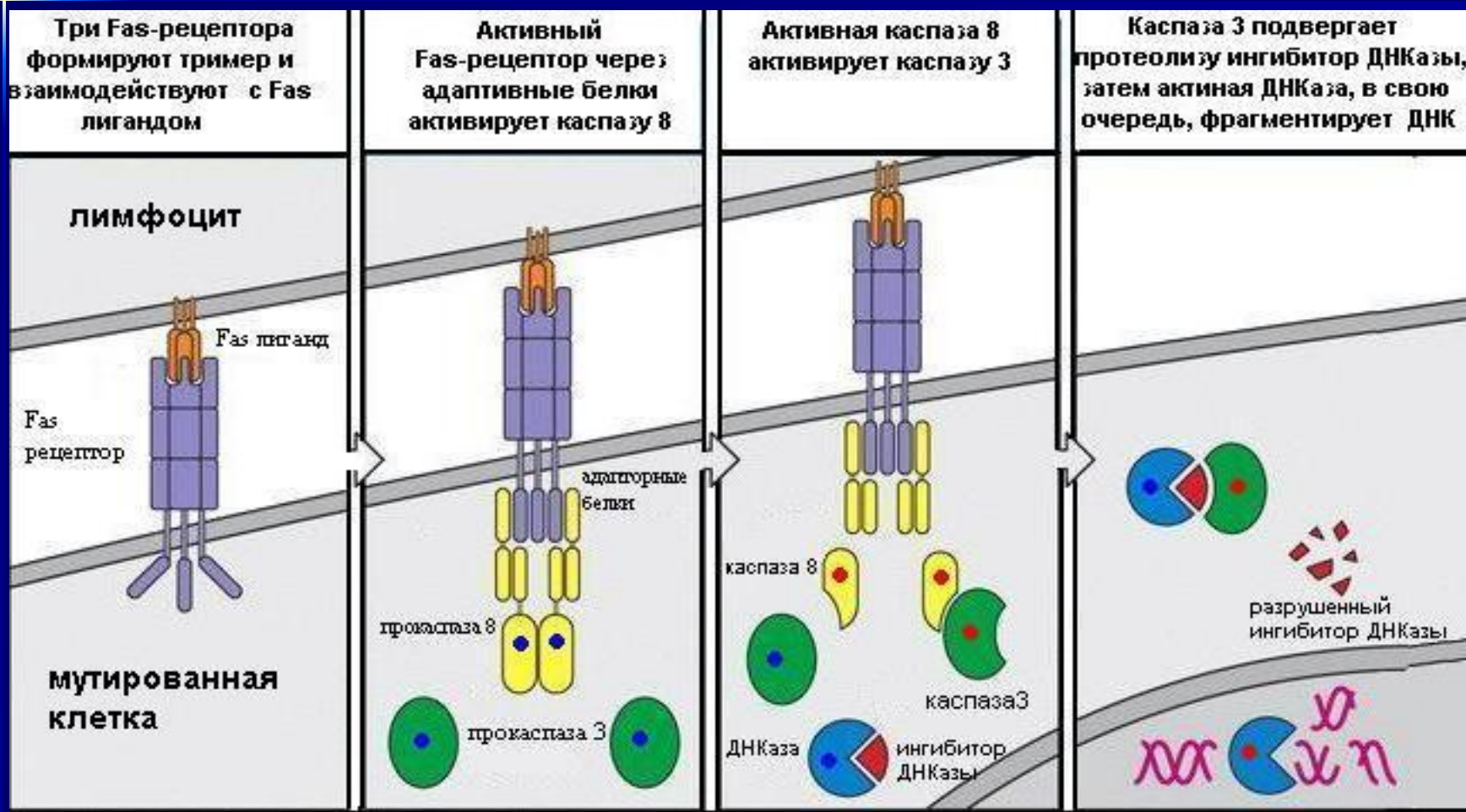




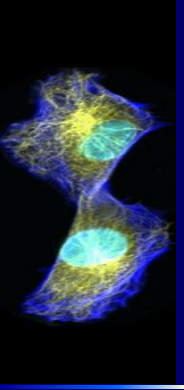
Мембранный путь активации апоптоза



Принципиальная схема активации мембранного пути на примере активации Fas рецептора

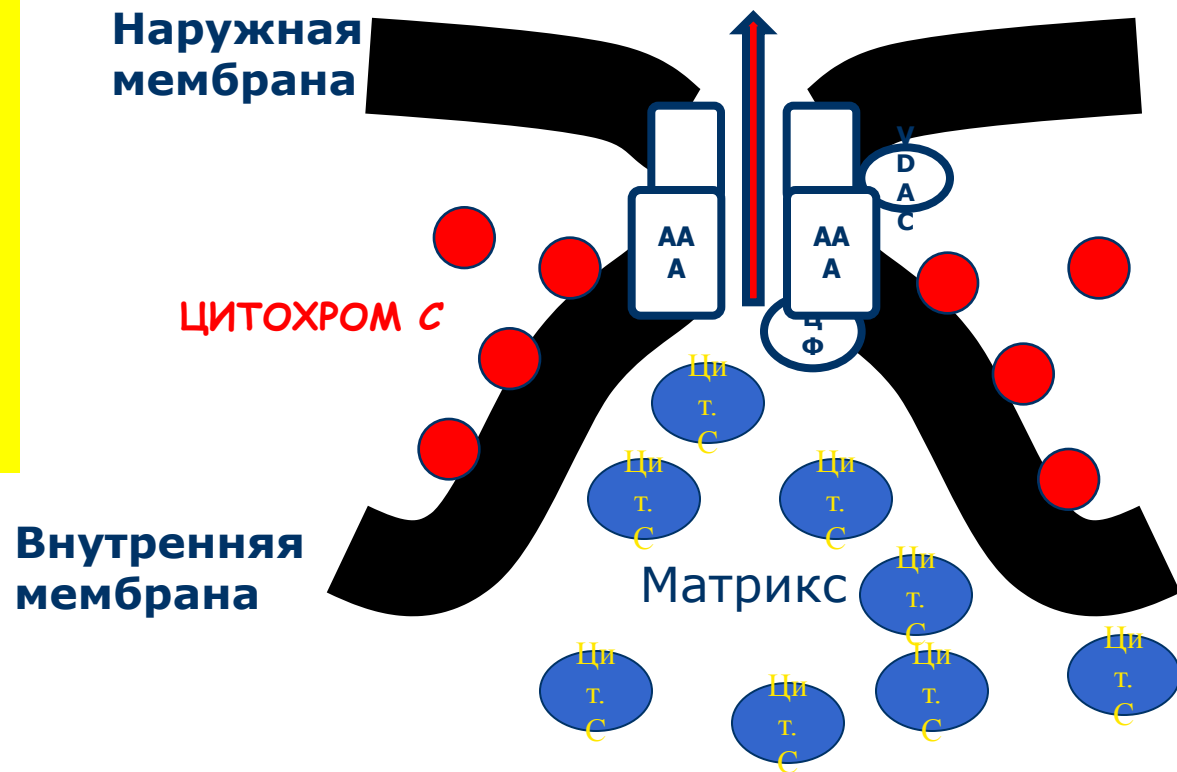


Синей точкой в центре обозначены неактивные ферменты
Красной точкой - активные ферменты



Митохондриальный путь активации апоптоза

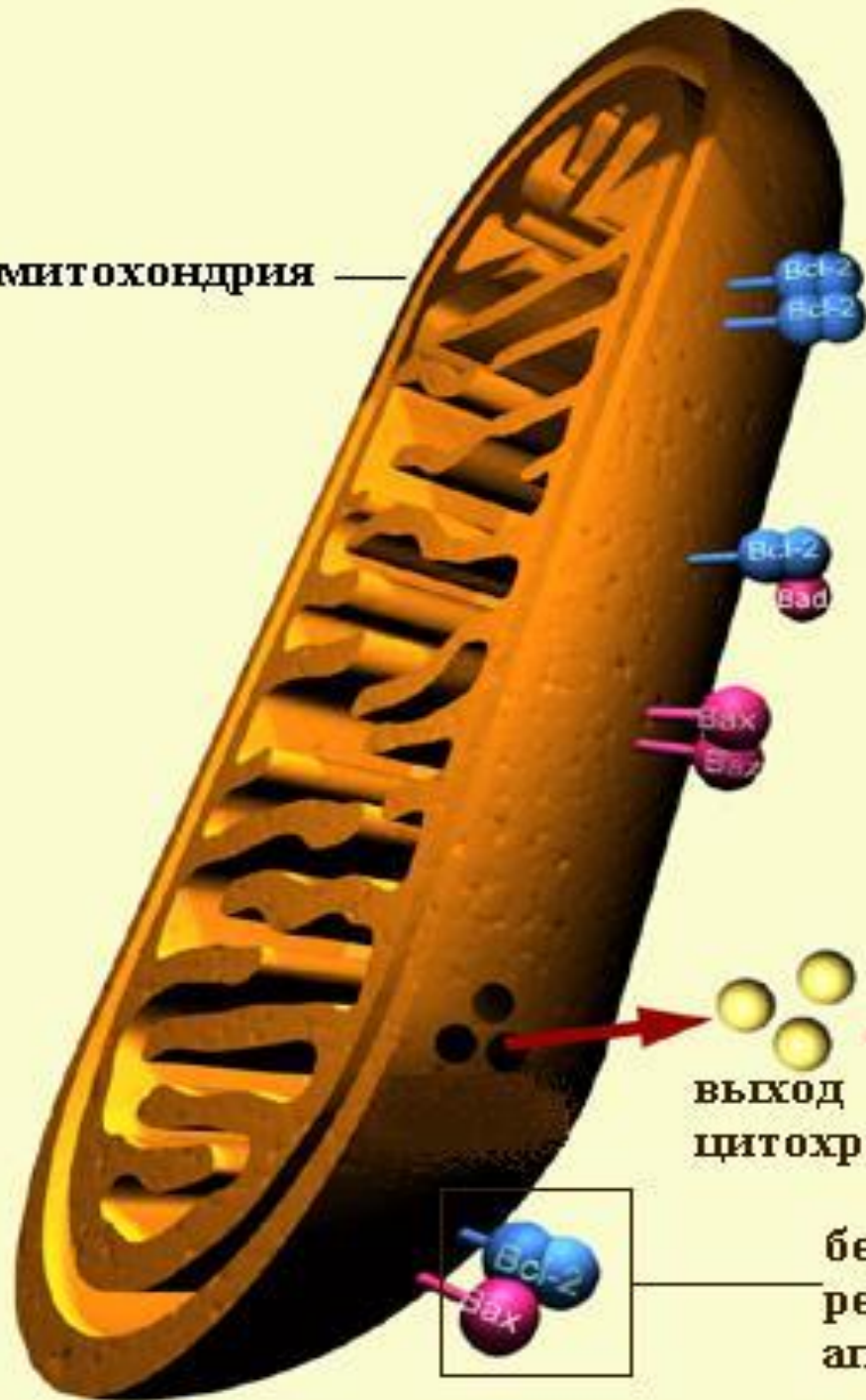
Почему появление неселективной поры приводит к выходу цитохрома с из межмембранного пространства?



Последовательность событий:

1. Воздействие на митохондрии индуктора апоптоза.
2. Рост проницаемости внутренней мембраны.
3. Набухание матрикса.
4. Разрыв наружной мембраны.
5. Выход цитохрома С.

митохондрия

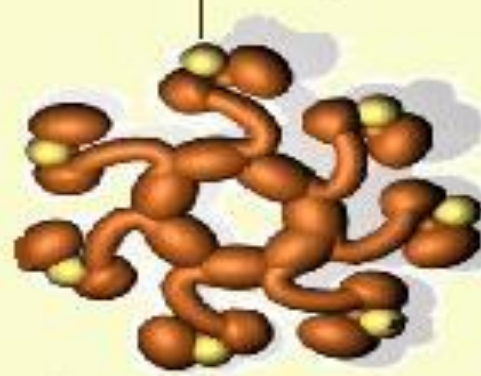


ВЫХОД
цитохрома С

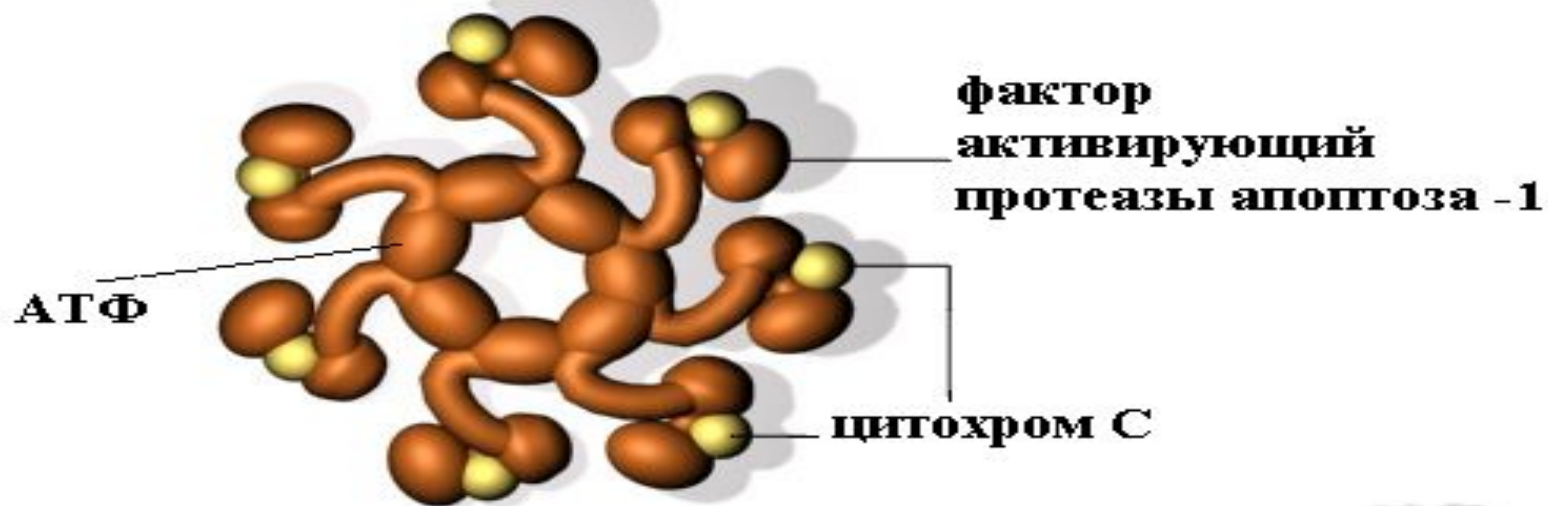


белки
регуляторы
апоптоза

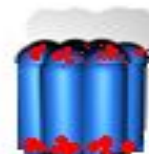
сформированная
апоптосома
связывается с
цитохромом, запуская
активацию
прокаспазы 9



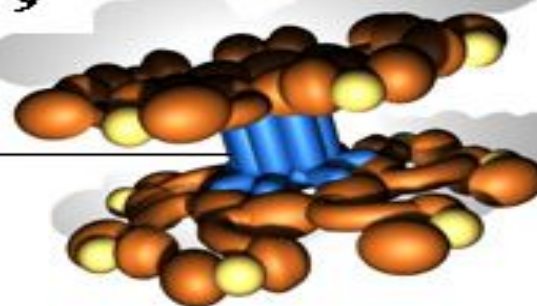
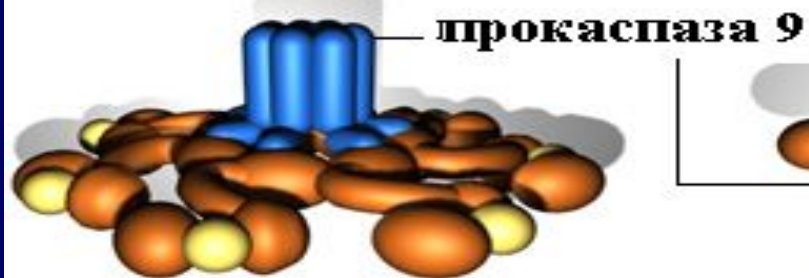
сформированная апоптосома

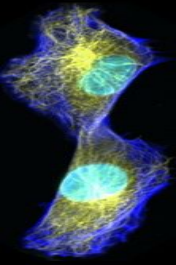


активирование
прокаспазы 9

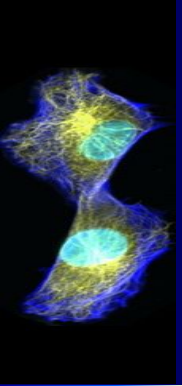


активная каспаза 9



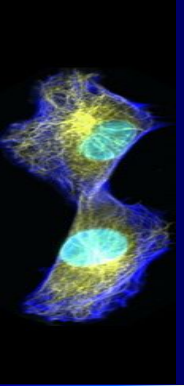


Итог митохондриального и мембранного пути активации каспаз



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)

ДНКазы с
ингибитором

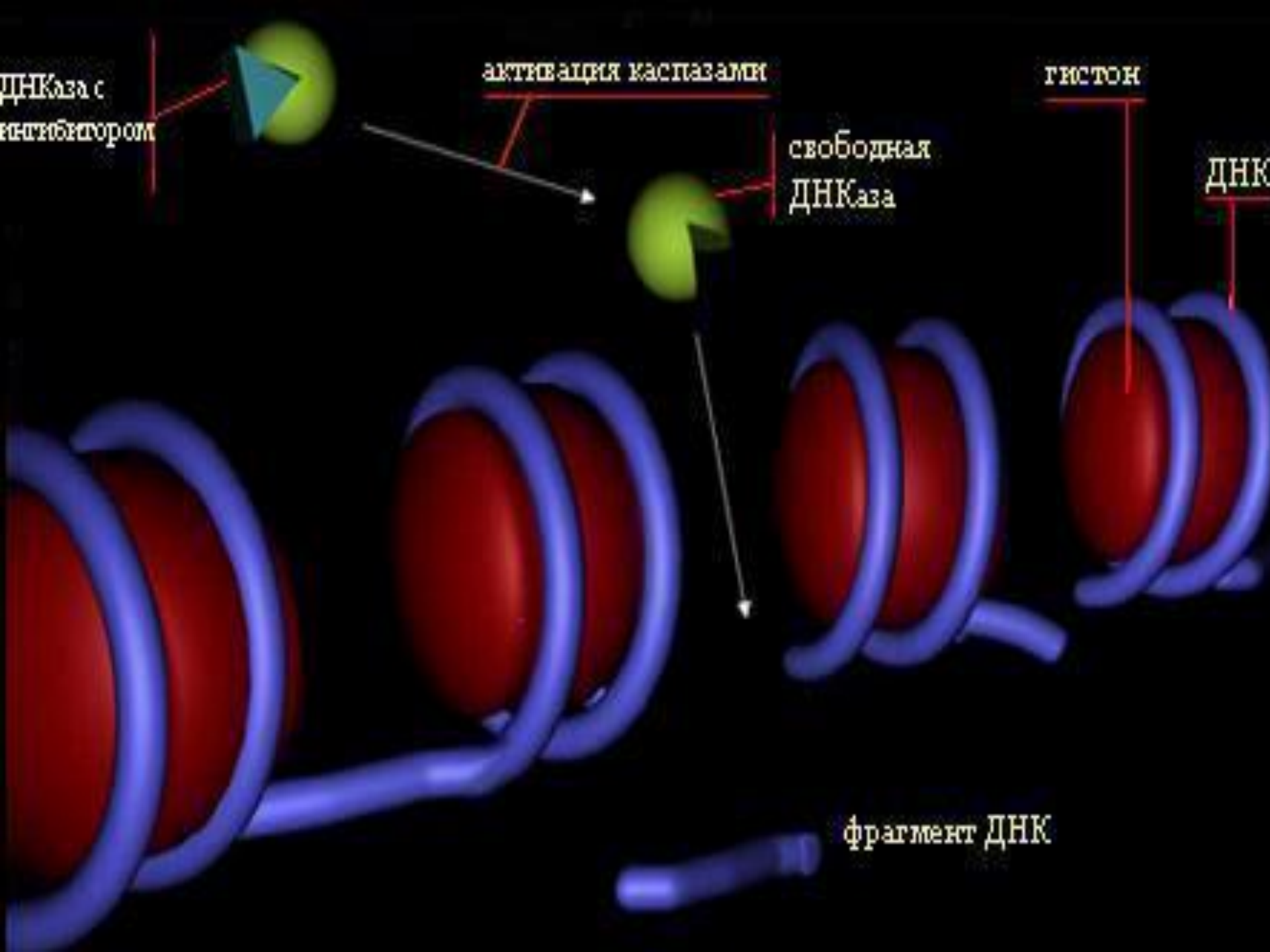
активация каспазами

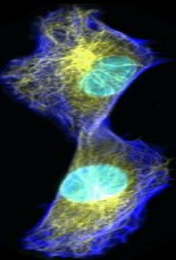
ГИСТОН

свободная
ДНКазы

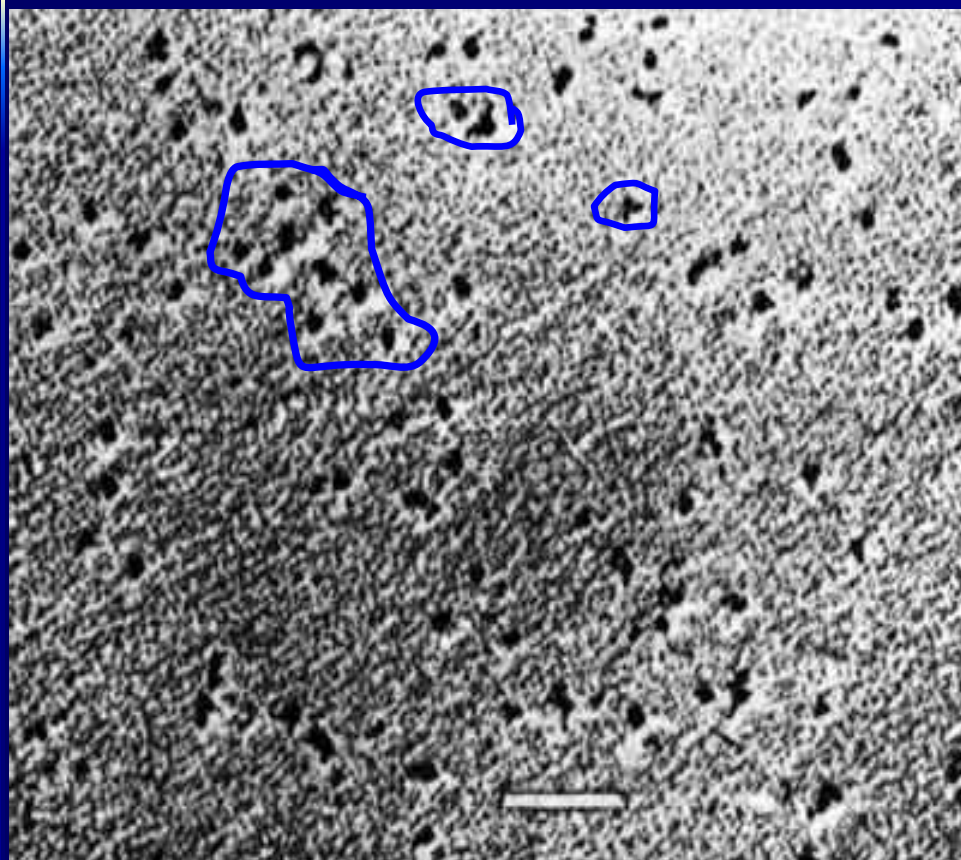
ДНК

фрагмент ДНК

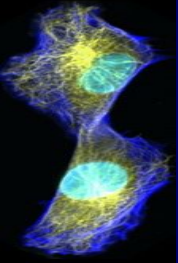




РЕЗУЛЬТАТ ДЕЙСТВИЯ АПОПТИЧЕСКОЙ ДНКазы

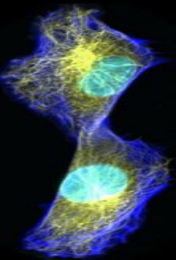


Электронная
микрофотография
фрагмента ядра.
Видны
фрагментированные
нуклеосомные
частицы

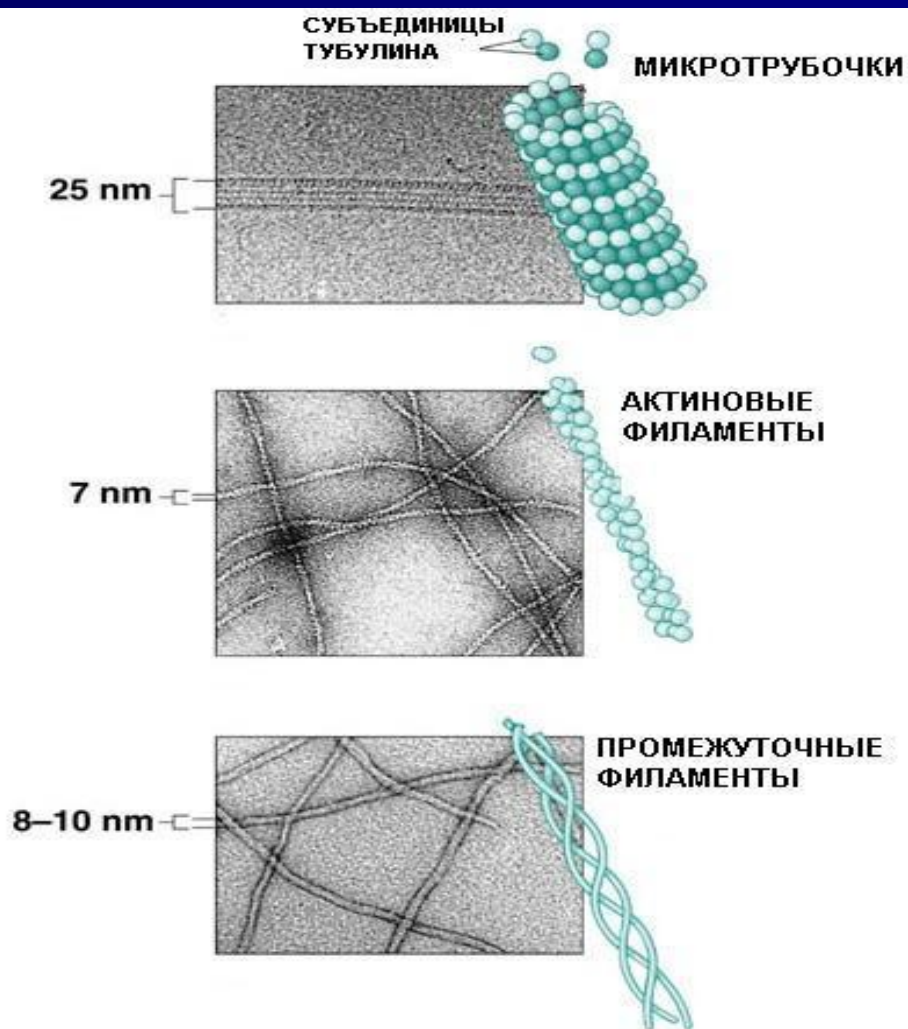


МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЭФФЕКТОРНЫХ КАСПАЗ

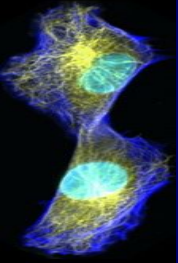
2. Гидролиз белков ламинов, армирующих (укрепляющих) ядерную мембрану. Это способствует конденсации хроматина;



МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЭФФЕКТОРНЫХ КАСПАЗ

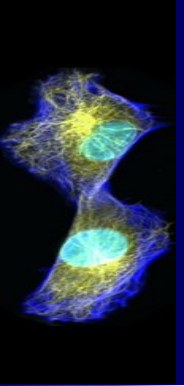


3. Разрушение белков, участвующих в формировании цитоскелета;

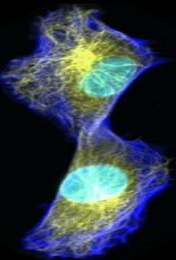


МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЭФФЕКТОРНЫХ КАСПАЗ

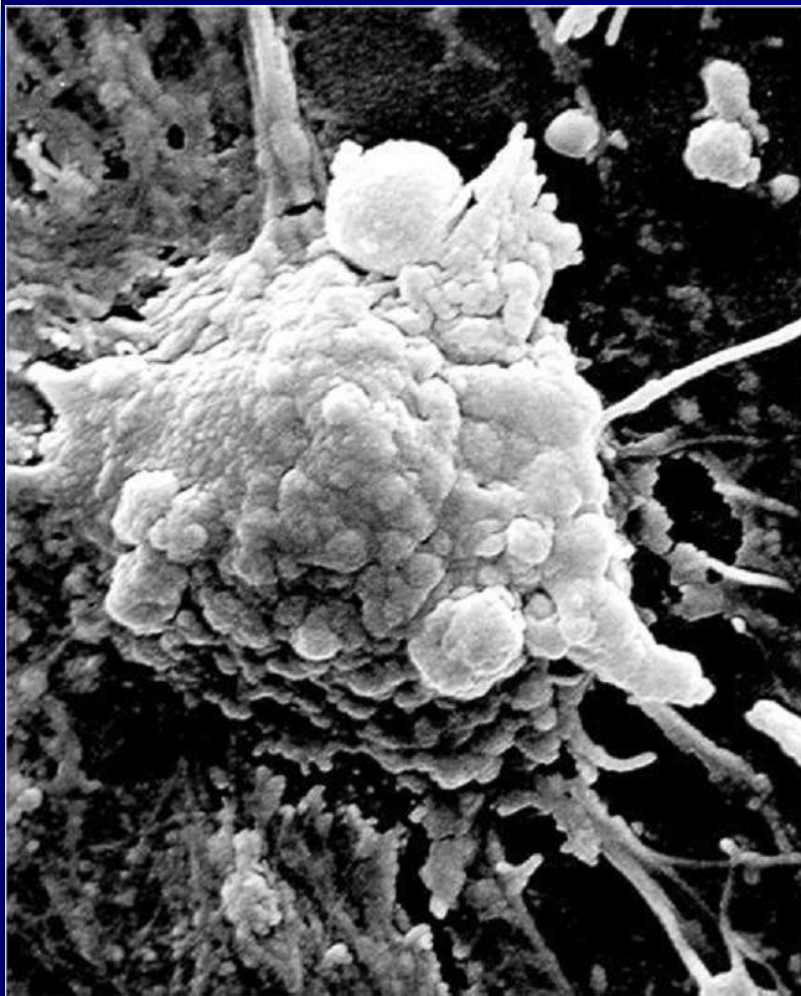
4. Инактивация и нарушение регуляции белков, участвующих в репарации ДНК, сплайсинге мРНК, репликации ДНК.



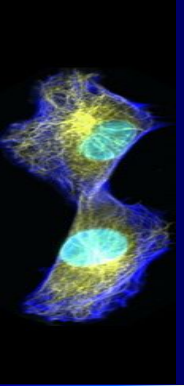
**Последняя фаза апоптоза
– фаза деградация.**



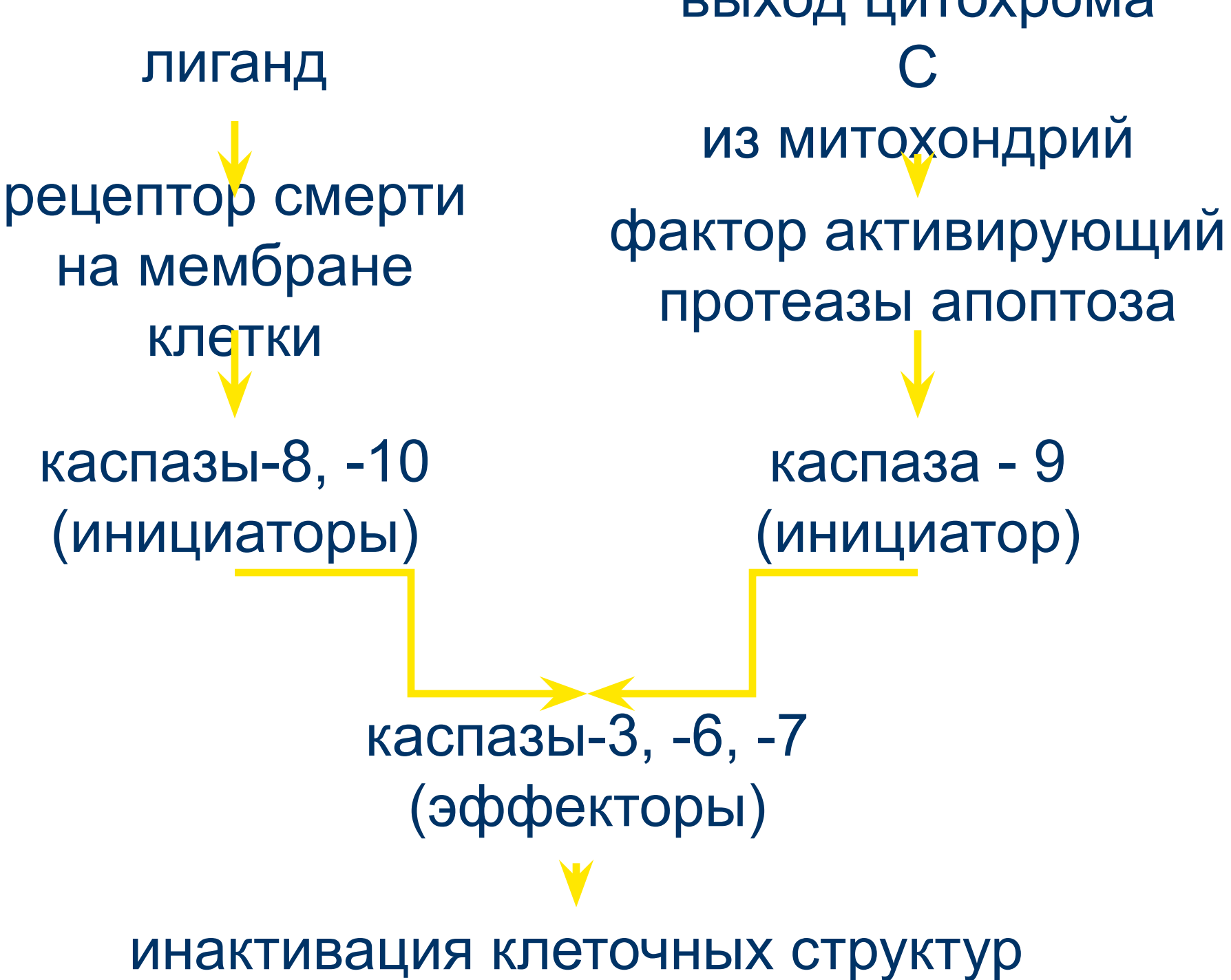
ФАЗА ДЕГРАДАЦИИ:

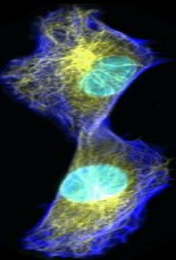


на завершающем этапе происходит появление апоптотических телец: пузырей на поверхности клетки внутри которых находятся упакованный конденсированный хроматин и органеллы. Фагоциты быстро обнаруживают, поглощают и разрушают апоптотические тельца. Благодаря этому содержимое клетки не попадает в интерцеллюлярное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



ИНТЕГРАТИВНАЯ СХЕМА АПОПТОЗА И ЕГО РЕГУЛЯЦИИ

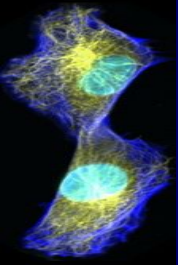




Различия между апоптозом и некрозом

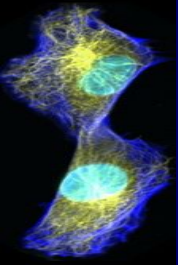
	свойство	некроз	апоптоз	Запрограммированная смерть
	Может быть физиологическим явлением	никогда	никогда	всегда
	Происходит уменьшение объема клетки	-	+	+
	Контролируемость процесса	+	+++	+++
	Нарушение целостности мембран	+	-	-
	Ядро разрушается в последнюю очередь	+	-	-
	Выход лизирующих ферментов в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

ПРИЛОЖЕНИЕ

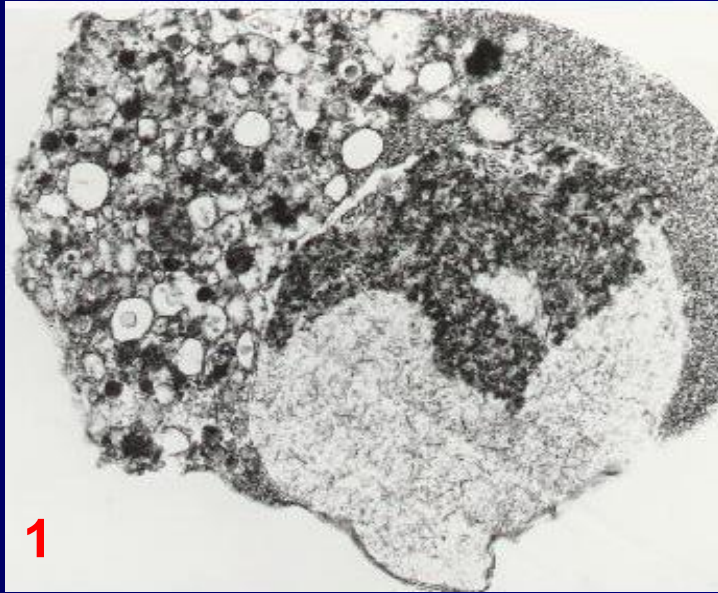


Зачем нужно знать и понимать апоптоз?

- 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