

2014/3

# Zánik buňky

## Apoptóza

## Nekróza

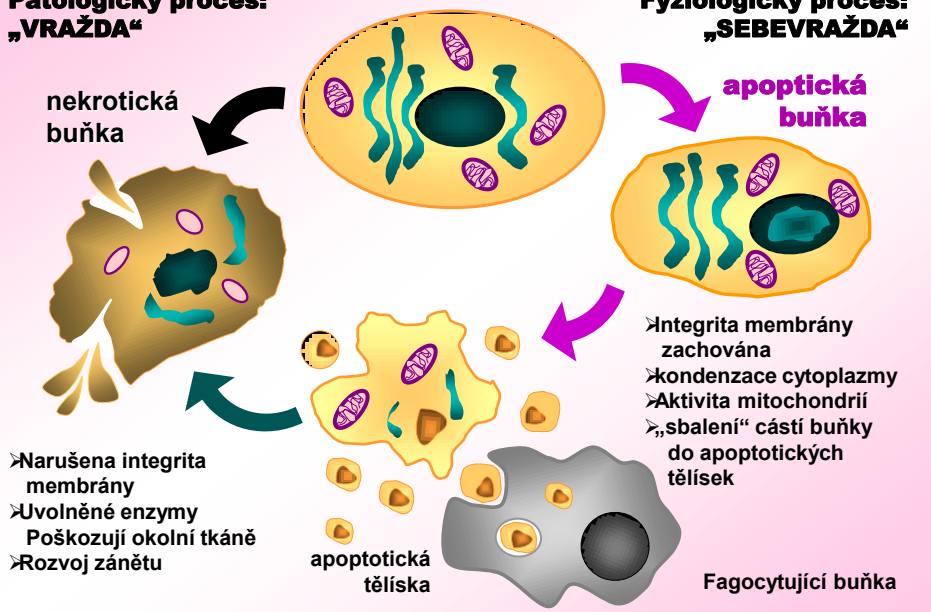
RNDr. Ivana Fellnerová, Ph.D.  
Katedra zoologie  
PřF UP Olomouc

### Zánik buňky: Apoptóza vs. Nekróza

Patologický proces:  
„VRAŽDA“

© Fellnerová I. PřF UPOL

Fyziologický proces:  
„SEBEVRAŽDA“



## Programová smrt buňky – fyziologický proces

© Fellnerová I. PřF UPOL

**PROGRAMOVÁ smrt = jakákoli ŘÍZENÁ forma buněčné smrti, regulovaná vnitrobuněčným programem  
FYZIOLOGICKÝ PROCES**

- Dospělý zdravý mnohobuněčný organismus – **stálý počet buněk**
- Kontinuální **tvorba nových buněk**
- Nutnost **kompensace nárůstu** buněk průběžným odstraňováním nepotřebných (poškozených) buněk
- Zánik buněk – **přirozený proces** sebeobnovy i ochrany organismu – **homeostáza**
- Nekontrolované uvolnění vnitrobuněčného obsahu – poškození okolní tkáně – **potřeba regulace zániku buňky**

## Programová smrt buňky - formy

© Fellnerová I. PřF UPOL

- **Každá buňka** mnohobuněčného organismu obsahuje **program k sebeustrukci**
- Nutné **kondenzovat** buněčné složky do menších izolovaných útvarů a jejich následné **šetrné odstranění**
- **AUTOFAGIE:** proces udržující pozitivní energetickou a látkovou bilanci buňky při hladovění, zátěži popř. během remodelace tkání v onotgenezi (např. metamorfóza hmyzu)
  - Uzavření buněčných proteinů **do autofagosomů**
  - **Splynutí s lysozomy** a enzymatický **rozklad** popř. **recyklace** buněčných složek
  - Autofagie: programová cesta smrti nebo způsob jak jí předejít?
- **APOPTÓZA** (heterofagie)

# Apoptóza = fyziologický proces: KDY? KDE?

© Fellnerová I. PřF UPOL

## Apoptóza v EMBRYOGEZI

- Vymizení ocasu pulců ve vývoji žab
- Vznik končetin a prstů u primátů
- Formování větvených orgánů vč. cévního systému je spojeno s přesně řízenou apoptózou interagujících tkání
- Zánik neuronů (cca 1/2 neuronů savců zaniká v prenatalním vývoji)



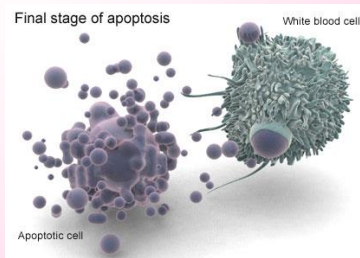
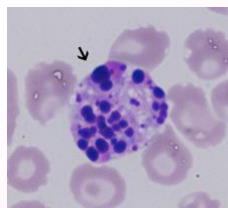
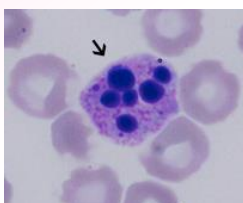
## Apoptóza v ONTOGENEZI

- Regulace počtu a kvality imunitních buněk
- Remodeling kostí při tvorbě zubů nebo tvorbě cévního řečiště
- Zánik děložní sliznice při menstruaci
- Odstraňování zestárlých, opotřebovaných buněk
- Likvidace stresem poškozených buněk (nedostatek živin, poškození DNA aj.)
- Likvidace infekcí napadených buněk (virózy)

# Morfologické změny při apoptóze

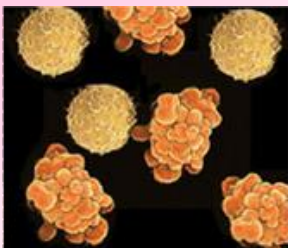
© Fellnerová I. PřF UPOL

- **Kondenzace jádra** (následné štěpení DNA), fragmentace jádra
- **Smrštění buňky:** kondenzace cytoplazmy
- **Váčekvité výrůstky z membrány** (změny v cytoskeletu); postupné oddělování váčků z apoptické buňky – pohlcování okolními fagocyty
- Změny ve stavbě membrány: expozice **fosfatidylserinu na povrch buňky** (váčků) – signál pro fagocyty
- **Rozpad buňky na apoptická tělíčka**

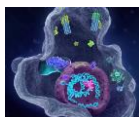


## Morfologické změny při apoptóze

© Fellnerová I. PřF UPOL



<http://www.youtube.com/watch?v=xkASer3gEnc> video



<http://www.youtube.com/watch?v=SyvOPXeg4ig> animace vnitřní a vnější dráhy aktivace

## Aktivace apoptózy

© Fellnerová I. PřF UPOL

**Na základě molekulárních signálních drah rozlišujeme DVĚ ZÁKLADNÍ CESTY AKTIVACE APOPTÓZY:**

- **VNĚJŠÍ CESTA (zprostředkovaná membránovými receptory) :**
  - Aktivovaná **vnějšími podněty** (stresovými faktory, cytotoxickými buňkami)
  - Stimulace **tzv. receptorů smrti (TNF-R, Fas receptor= CD 95= Apo-1)**
  - Přenos apoptického signálu do buňky – spuštění apoptické kaskády (aktivace kaspázy 8 a 10)
- **VNITŘNÍ CESTA (zprostředkovaná přes mitochondrie)**
  - Aktivovaná **vnitřními podněty** (poškození DNA, oxidativní stres, hypoxie)
  - Změna propustnosti mitochondriální membrány
  - Únik proapoptických signálů do cytosolu - spuštění apoptické kaskády – aktivace kaspázy 9, 7 a 3

## VNĚJŠÍ CESTA aktivace apoptózy

© Fellnerová I. PřF UPOL

### Vnější podněty → aktivace RECEPTORŮ SMRTI na membráně:

- **Vnější podněty: cytokiny** imunitních buněk, **vazba cytotoxických buněk** ( $T_c$  lymfocyty, NK buňky, NKT) **stresové faktory** (toxiny, chemické látky, radiace)
- **Vazba na receptory smrti:**
  - **Fas receptor** (= APO-1, CD95) – aktivován vazbou s Fas ligandem na  $T_c$  lymfocytech → oligomerizace receptorů → vytvoření komplexu DISC (death-inducing signalin complex)
  - **TNF-R** (= Tumor necrosis factor receptor)
- **Propojení rereceptorů smrti** (jejich DISC-Death-Inducing Signaling complex) s **pro-kaspázou 8** prostřednictvím adaptorového proteinu **FADD** (Fas associated death domain)
- Aktivace **kaspázy 8**
- **Aktivace apoptózy** (aktivace endonukleáz → DNA fragmentace, rozklad jaderných proteinů-aktin, laminin; rozklad cytoskeletu – keratin, aktin)

## VNITŘNÍ CESTA aktivace apoptózy

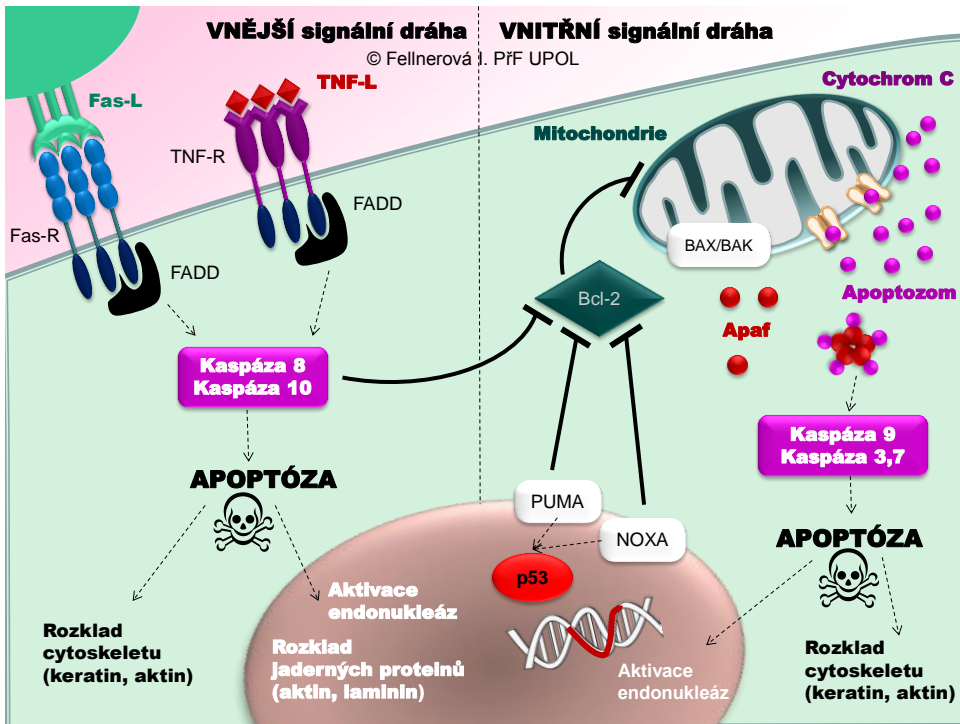
© Fellnerová I. PřF UPOL

### Vnitřní podněty → poškození DNA → MITOCHONDRIÁLNÍ cesta

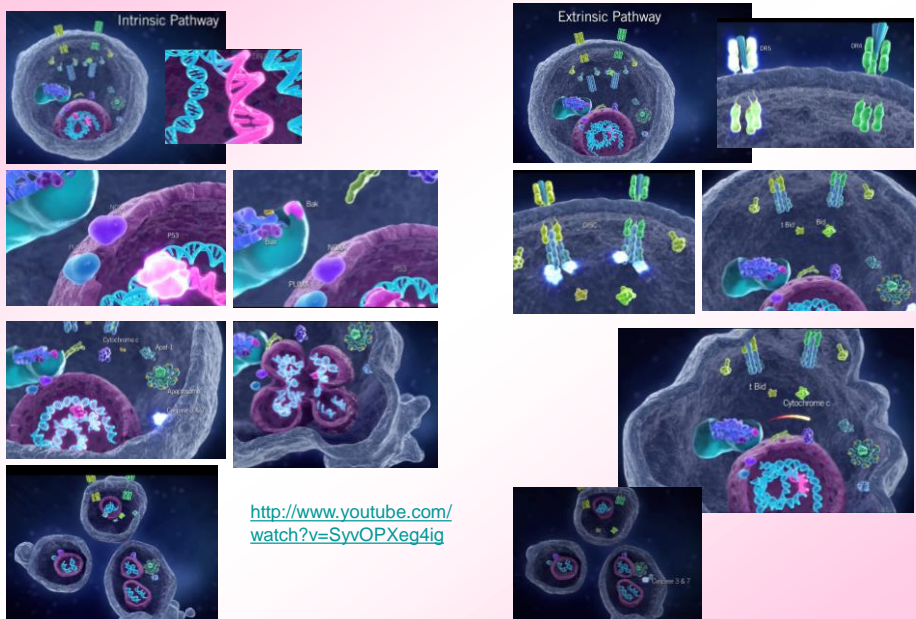
- **Vnitřní podněty:** poškození DNA, porušení struktury proteinů, nedostatek růstových signálů nebo signálů pro přežití
- **Aktivace jaderného p53** (tzv. „hlídač genomu“)
- **Expese PRO-apoptických proteinů:** v závislosti na typu vnitřního podnětu např. PUMA, NOXA (blokuji PROTI-apoptický protein Bcl-2); PRO-apoptické efektorové proteiny zvyšující propustnost mitochondriální membrány (např. BAX, BAK)
- **Zvýšení propustnost mitochondriální membrány** → únik látek aktivujících kaspázu 9 (např. cytochrom C)
- **Formování apoptozómu** vazbou cytochromu C na cytosolový protein Apaf-1
- **Aktivace kaspázy 9** a následně efektorových kaspáz 3 a 7
- **Aktivace apoptózy** (aktivace endonukleáz → DNA fragmentace, rozklad jaderných proteinů-aktin, laminin; rozklad cytoskeletu – keratin, aktin)

<http://www.youtube.com/watch?v=SyvOPXeg4ig> animace vnitřní a vnější dráhy aktivace





## VNITŘNÍ a VNĚJŠÍ CESTA aktivace apoptózy



## 2002: NOBELOVA CENA /Fyziologie, medicína Genetická regulace vývoje orgánů a programované buněčné smrti



© Fellnerová I. PíF UPOL



### Sydney BRENNER

Berkeley, CA, USA

\*1927

Pro studium buněčné diferenciaci použil jako modelový organismus hlístici *Caenorhabditis elegans*, která má přesně definovaný počet buněk - 959



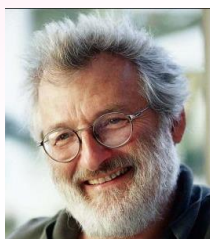
### H. Robert HORVITZ

Cambridge, MA, USA

\*1947

Na modelu hlístice *C. elegans* identifikoval první „geny buněčné smrti“ *ced-3* a *ced-4* a gen zabraňující buněčné smrti: *ced-9*

## SLOVNÍČEK



### John E. SULSON

Cambridge, UK

\*1942

Na modelu hlístice *C. elegans* vyvinul techniku studia buněčných linií. Potvrdil přesné řízení buněčné smrti.

**ced-3, ced-4** : geny hlístice *C. elegans* (aktivace apoptózy)

**ced-9**: gen hlístice *C. elegans* – tlumí apoptózu

**Bcl-2**: lidský protoonkogen působící proti apoptóze (objeven u B cell lymphoma); analog *ced-9*

**Apaf-1**: lidský „Apoptosis-Activating Factor“ uvolňovaný z mitochondrií; analog *ced-4*

**Kaspázy**: (Cysteine protease cleaving proteins after **ASP**artic acid res.) – proteolytické e. u člověka popsáno 10.

## Nekróza

© Fellnerová I. PíF UPOL

### PATOLOGICKÝ proces: NÁHLÁ „VRAŽDA“

- Náhlý **nečekaný** zánik buňky
- Není možnost aktivovat programové signální dráhy
- Dochází k **narušení membrány**
- **Uvolnění nechráněného obsahu** buňky do okolní tkáně (řada aktivních enzymů)
- Aktivace **zánětlivé reakce**
- **Nežádoucí proces**