

**Волгоградский государственный медицинский
университет**

Кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии

Жизненный цикл клетки. Апоптоз. Старение клетки.

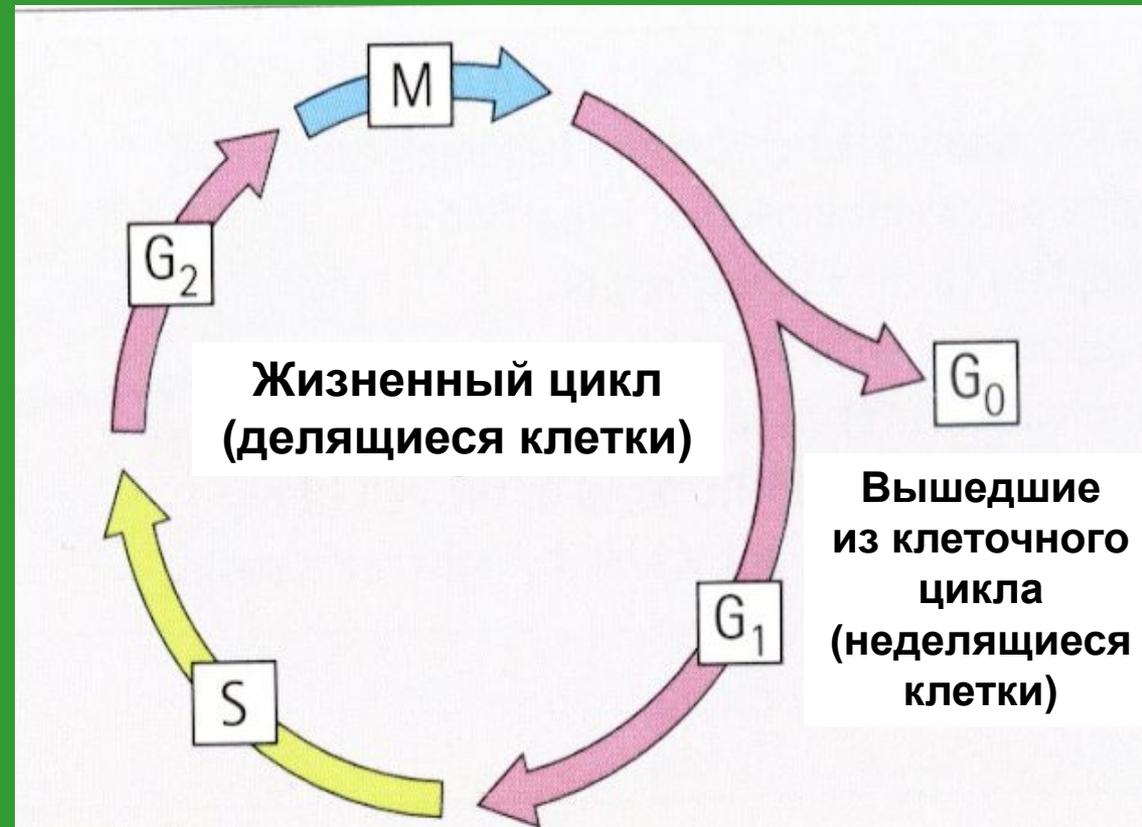
лекция для студентов I курса медико-биологического факультета

Старший преподаватель Ю.А. Глухова

**Волгоград,
2016**

Периоды клеточного цикла

- G1-период = постмитотически = пресинтетический
- S-период = синтетический
- G2-период = постсинтетический = премитотический
- M – митоз
- G0-период – покоя

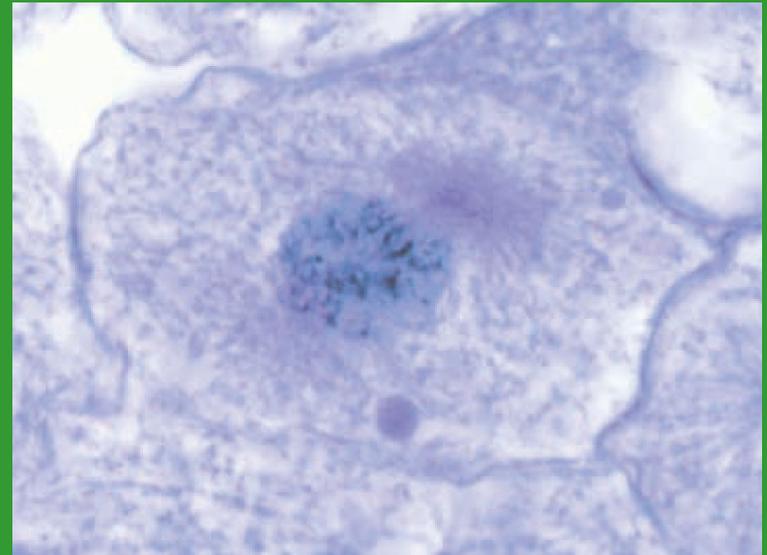
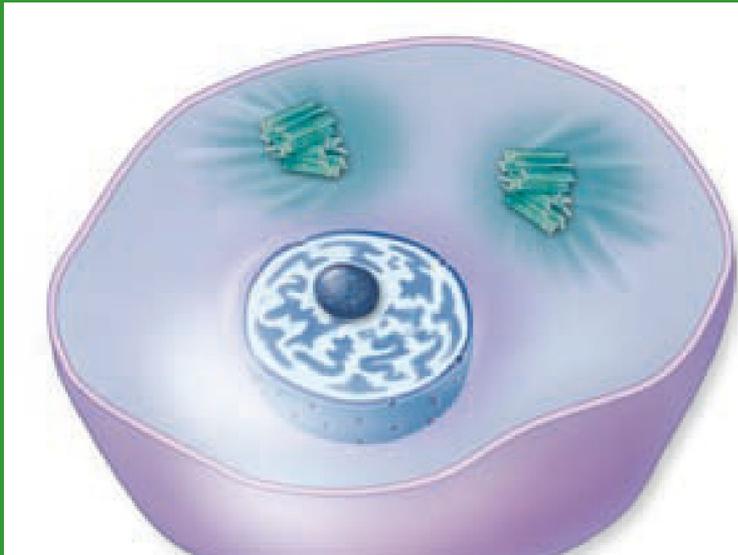


G1-период

- начинается сразу после образования клетки в результате митоза
- содержание ДНК в ядре постоянно – $2n$
- возрастает содержание цитоплазматических белков
- клетка достигает размеров материнской
- принимается «решение» о вступлении клетки в деление
- это «решение» может быть обратимым и необратимым
- с некоторого момента времени – т.н. точки рестрикции – сделанный выбор становится необратимым

S-период

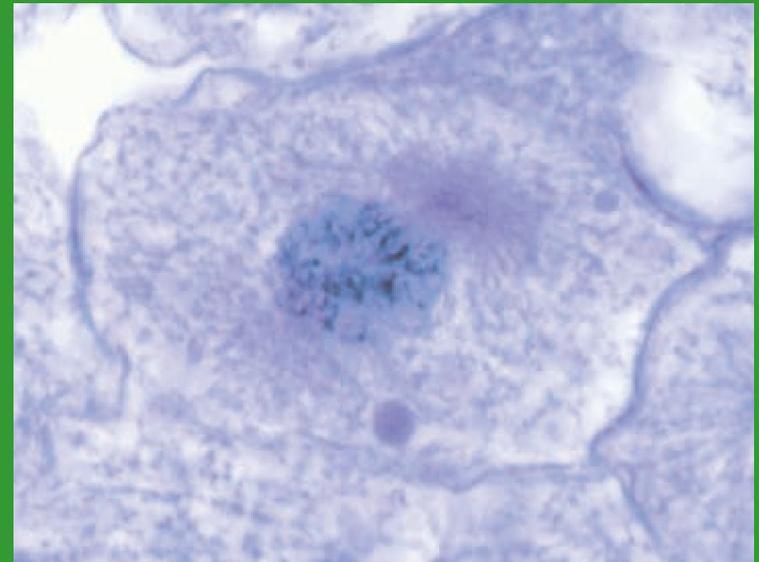
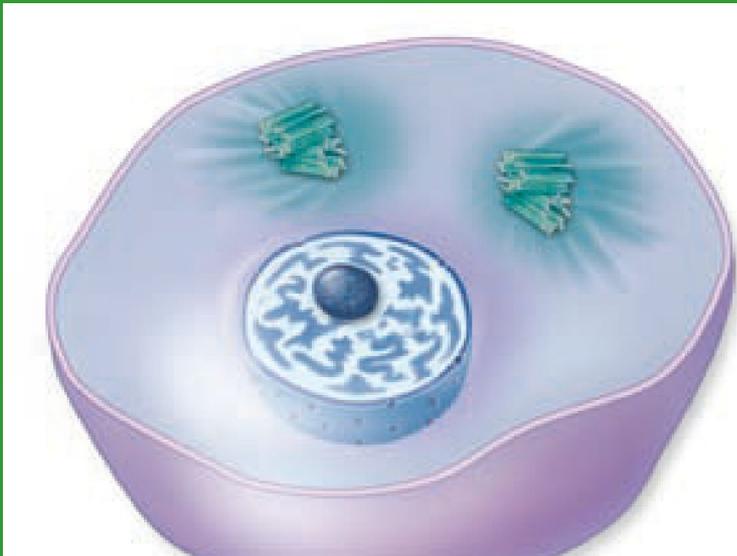
- репликация молекулы ДНК (кроме центромерных участков) – $4n$
- удвоения количества хромосомных белков
- дупликация центриолей



G2-период

- синтез ряда веществ, необходимых для прохождения митоза
- в т.ч. тубулина – белка микротрубочек веретена деления

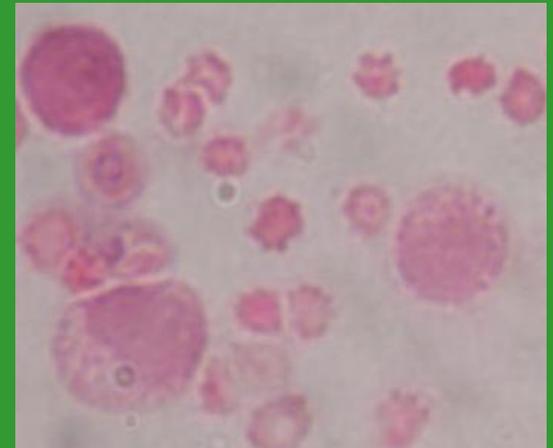
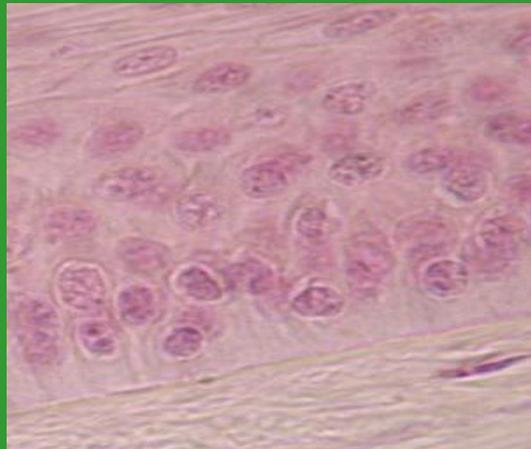
G1 + S + G2 = интерфаза



Типы клеток по способности к делению

1) митотические (делящиеся) клетки:

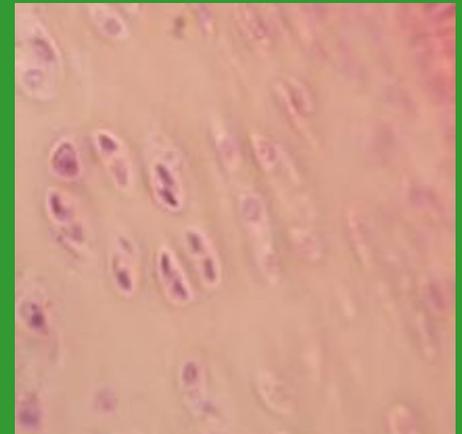
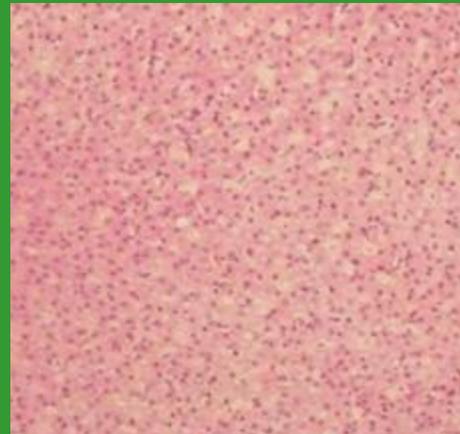
- клетки базального слоя эпителия
- гемопоэтические клетки начальных стадий созревания
- сперматогонии



Типы клеток по способности к делению

2) условно постмитотические клетки – неделящиеся клетки, сохранившие способность к делению при действии определенных стимулов:

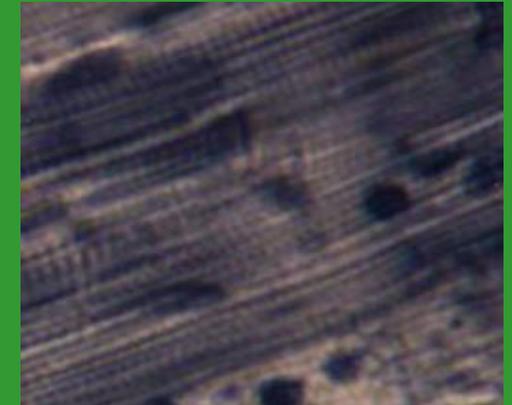
- гепатоциты
- фибробласты, хондробласты, остеобласты
- миосателлитоциты



Типы клеток по способности к делению

3) постмитотические клетки – неделящиеся клетки, окончательно потерявшие способность делиться:

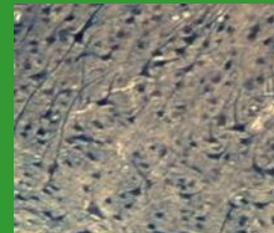
- клетки эпидермиса (кроме базального слоя)
- нейроны
- кардиомиоциты



Популяции клеток

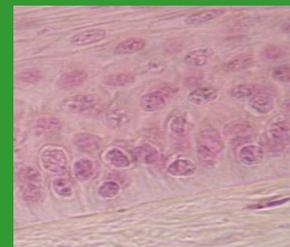
стационарные популяции:

- клетки мозга
- симпласты скелетной мышцы



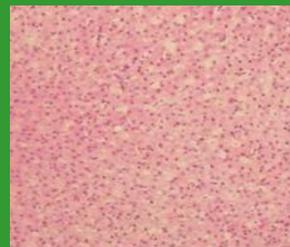
обновляющиеся популяции:

- клетки эпителия
- гемопоэтические клетки



растущие популяции:

- клетки желез
- клетки почек



Выход клетки из митотического цикла

$M \rightarrow G1 \leftrightarrow G0 \leftrightarrow G0 (D1) \rightarrow G0 (D2) \rightarrow G0 (D3)$

зрелые клетки функционируют в организме большую часть его жизни (нейроны, кардиомиоциты)

$M \rightarrow G1 \leftrightarrow G0 \leftrightarrow G0 (D1) \rightarrow G0 (D2) \rightarrow G0 (D3) \rightarrow X$

терминальная дифференцировка заканчивается гибелью клеток и сменой их другими генерациями таких же клеток (кератиноциты, клетки крови)

Регуляция клеточного цикла

- циклинзависимые киназы (Cdks) – ключевая роль в смене фаз клеточного цикла
- Cdks – фосфорилируют определенные белки – активируют или ингибируют их
- циклины (Ц) – белки, активирующие Cdks
- комплекс Ц-Cdk = активная форма протеинкиназы
- различное сочетание циклинов и киназ характерно для строго определенной фазы цикла

Регуляция клеточного цикла

- ранняя стадия G1 – циклин D-Cdk4(6)
- поздняя стадия G1 – циклин E-Cdk2
- ранняя стадия S – циклин A-Cdk2
- поздняя стадия S – циклин B-Cdk2
- G2 – циклин B-Cdk1

циклин B-Cdk1 = митоз-стимулирующий фактор
= MPF – вводит клетку в митоз и контролирует
этот процесс

Выход клетки из митоза

комплекс MPF:

- максимальная активность – в метафазу митоза
- фосфорилирует фактор APC – фактор, обеспечивающий анафазу

фактор APC = убиквитинлигаза

- присоединяет убиквитин к циклину В
- ⇒ циклин В разрушается в протеосомах
- содержание комплекса В-Cdk1 снижается
- завершение митоза

Внеклеточные регуляторы пролиферации

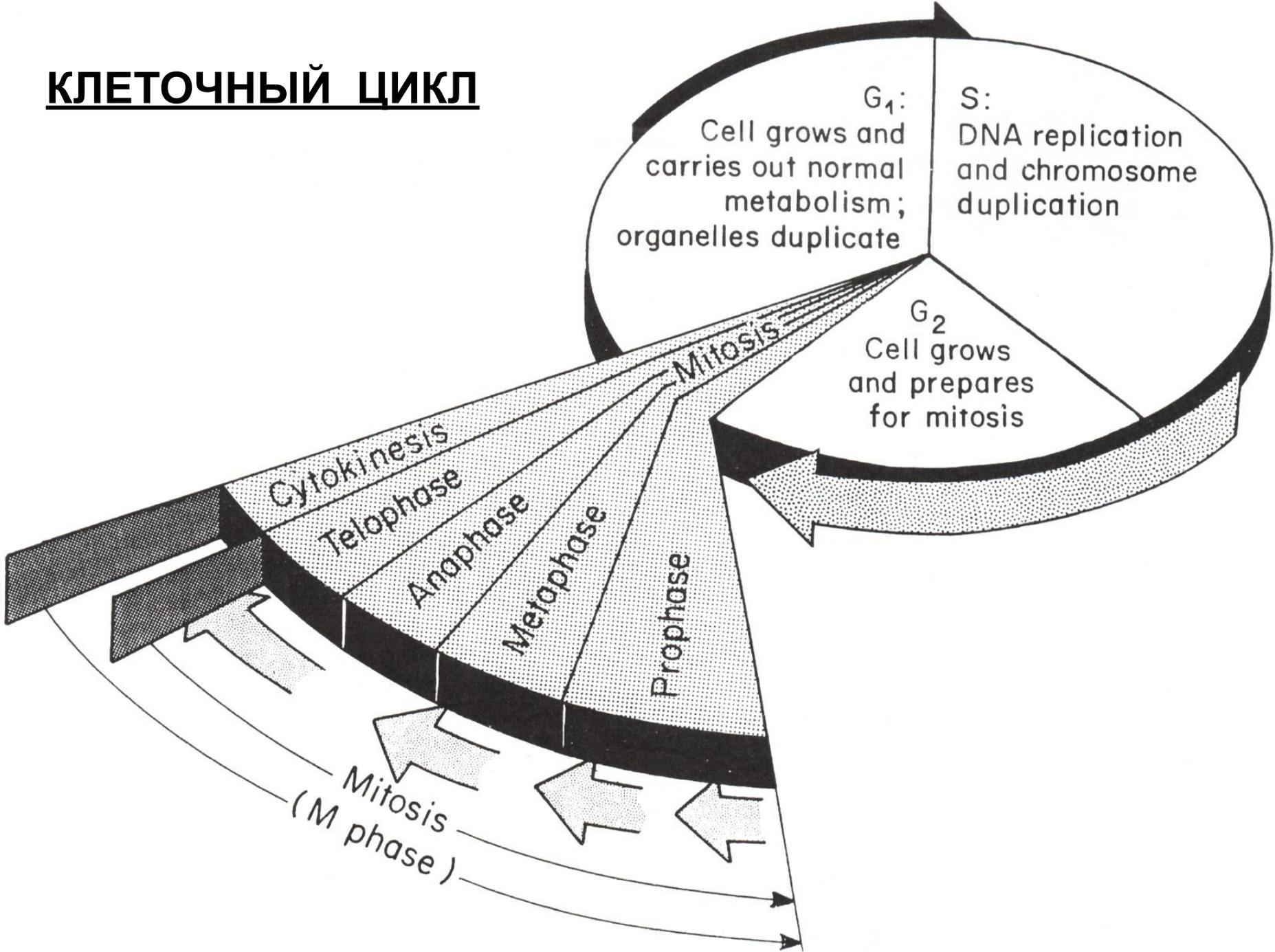
- действие митогенов – факторы роста, некоторые гормоны, интерлейкины

- действие антимитогенов – фактор некроза опухолей, трансформирующий фактор роста

- прикрепление клетки к внеклеточному матриксу – многие клетки способны делиться, только будучи прикрепленными к внеклеточной структуре – базальной мембране, коллагеновым волокнам

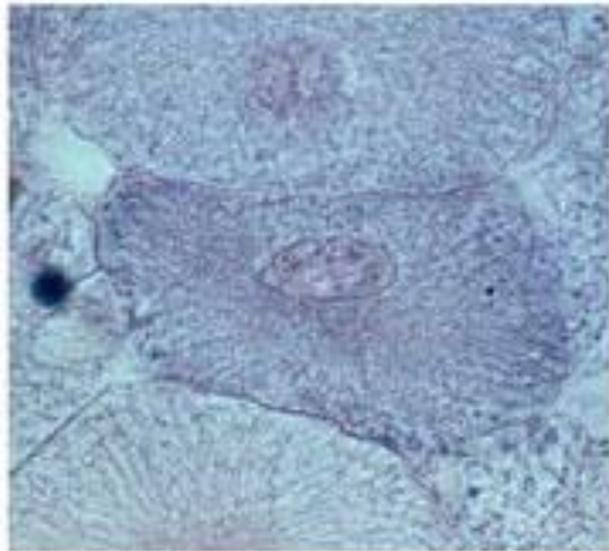
- контактное торможение пролиферации – когда клетка устанавливает контакт с другими клетками, она прекращает делиться

КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ

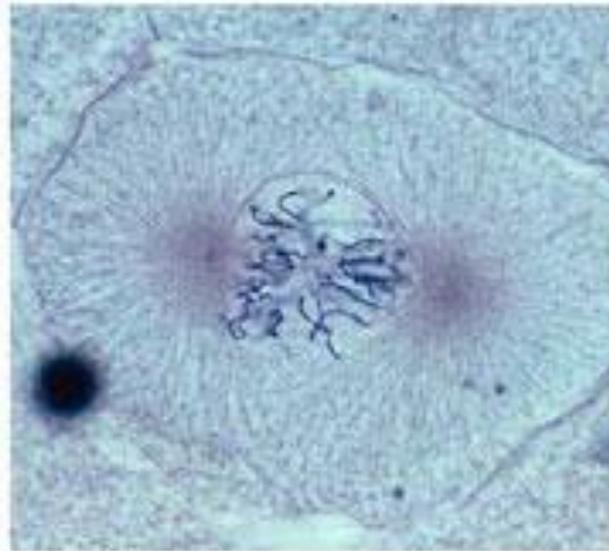


Митоз

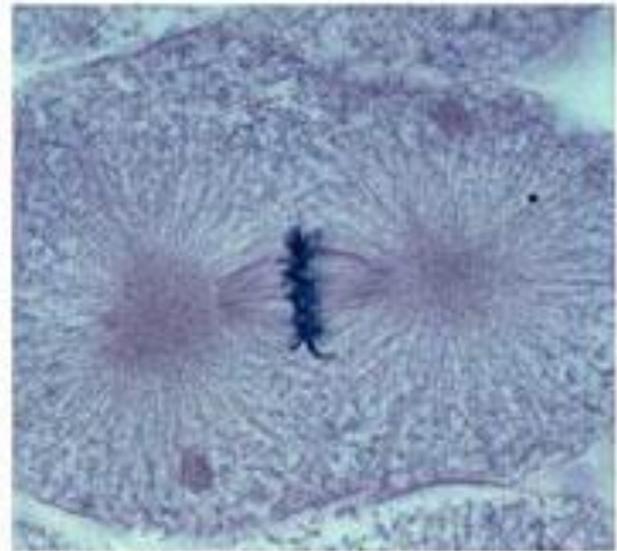
- от греч. *Mítos* – нить
- = кариокинез = не прямое деление клетки
- наиболее распространённый способ воспроизведения (репродукции) клеток, обеспечивающий
 - тождественное распределение генетического материала между дочерними клетками
 - преемственность хромосом в ряду клеточных поколений



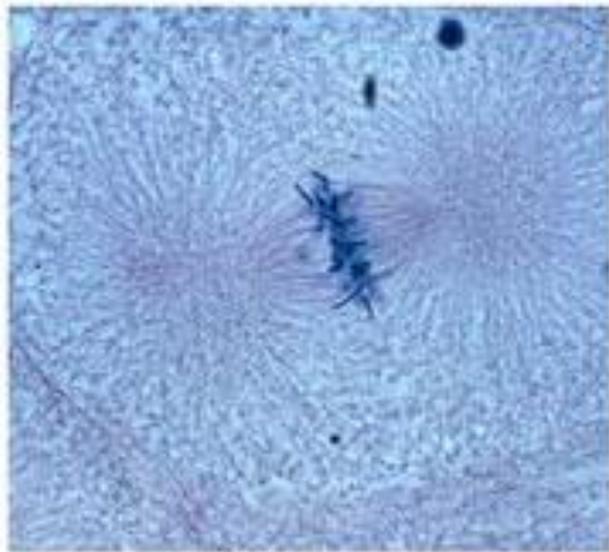
Interphase



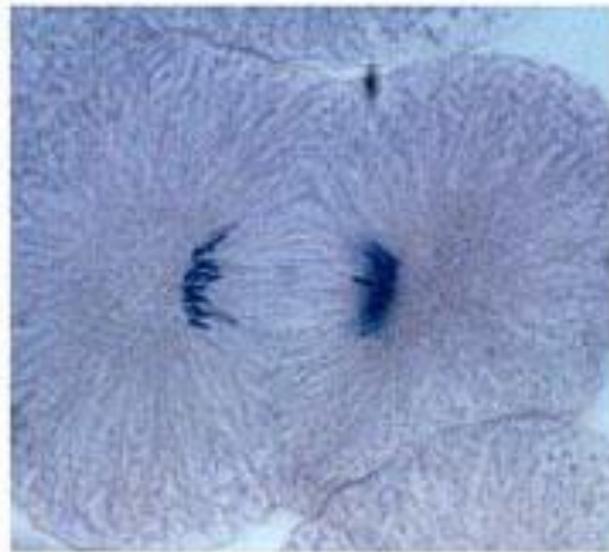
Prophase



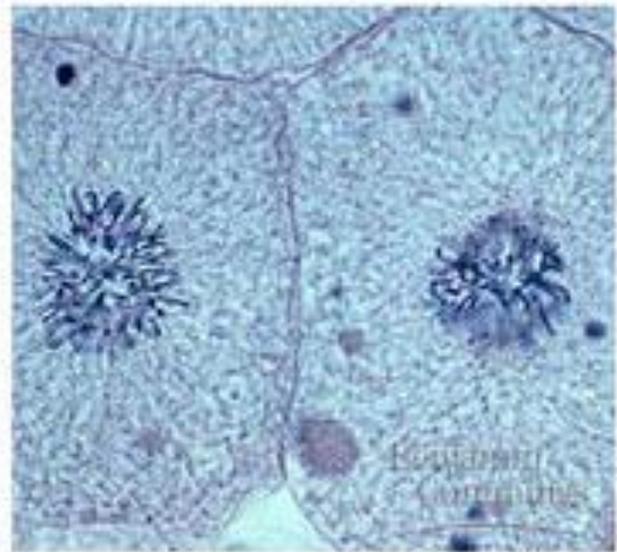
Metaphase



Anaphase



Early Telophase

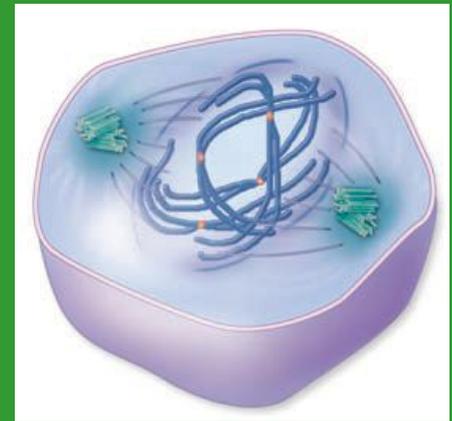


Late Telophase

Профаза

в ядре:

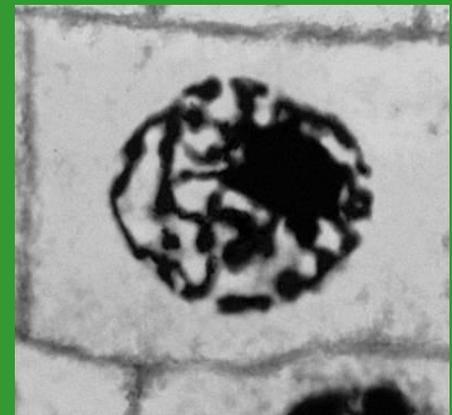
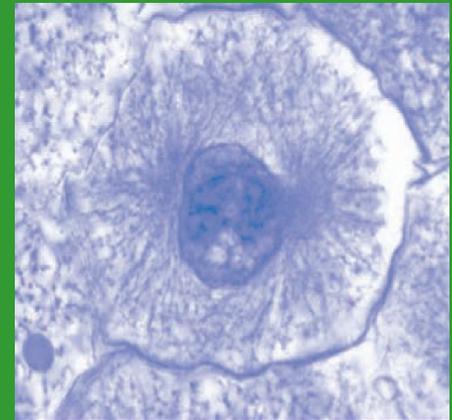
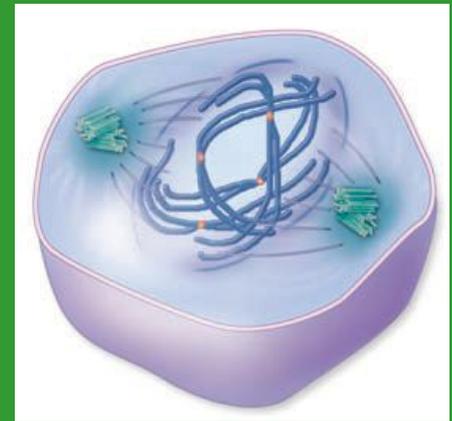
- конденсация хромосом
- каждая хромосома состоит из двух хроматид, связанных во многих местах белками-когезинами
- исчезновение ядрышек
- ядерная ламина разрушается путем деполимеризации промежуточных филаментов
- ядерные мембраны распадаются на мелкие пузырьки



Профаза

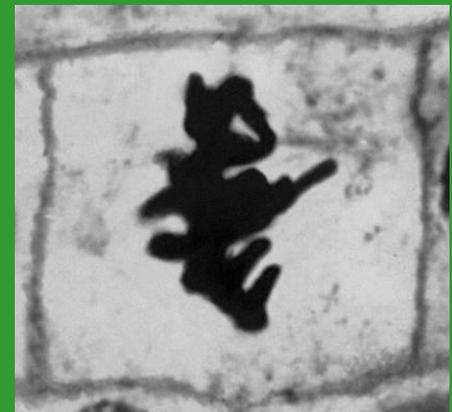
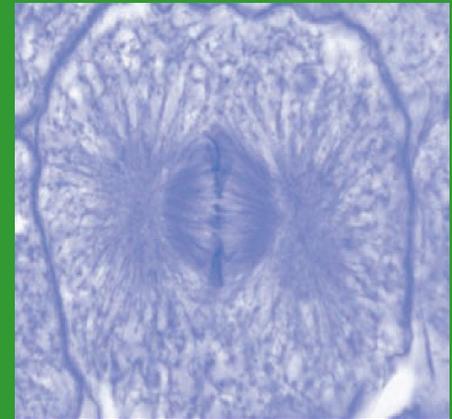
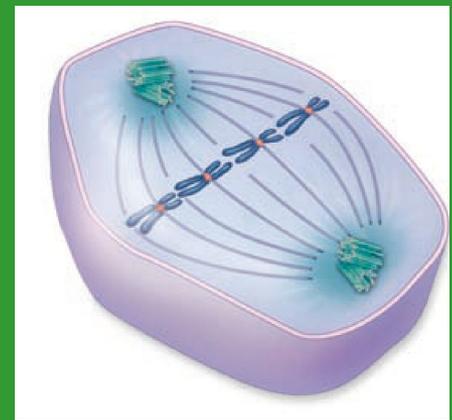
в цитоплазме:

- ЭПС и комплекс Гольджи распадаются на везикулы
- 2 диплосомы постепенно расходятся к полюсам клетки, начинают формировать веретена деления
- значительно снижается синтез белка на рибосомах



Метафаза

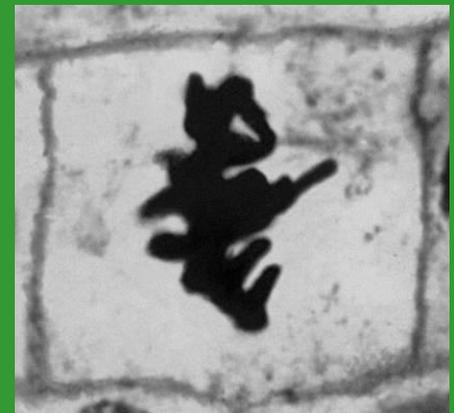
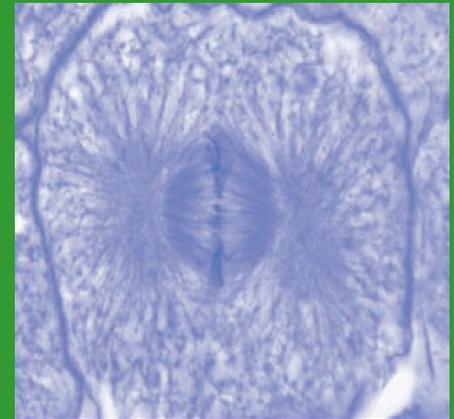
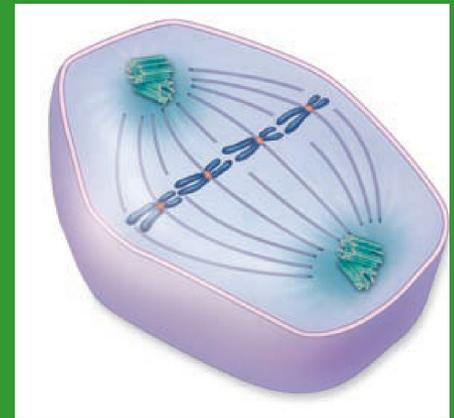
- хромосомы достигают максимальной степени конденсации
- хромосомы выстраиваются в экваториальной плоскости клетки – метафазная пластинка или материнская звезда
- хроматиды остаются связанными только в области центромеры
- завершается формирование веретена деления путем полимеризации белка тубулина



Метафаза

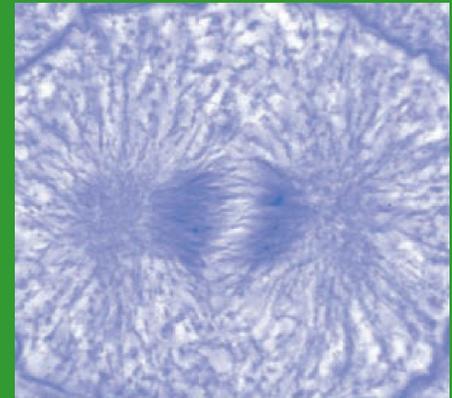
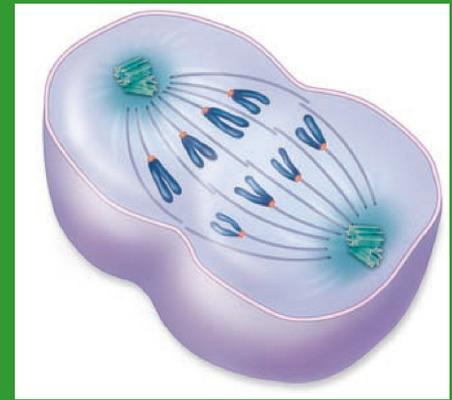
микротрубочки веретена деления:

- 1) кинетохорные – связывают каждую хроматиду с одной из диплосом
- 2) полярные – идут от одной диплосомы к центру веретена, где перекрываются с микротрубочками другой диплосомы
- 3) астральные – направлены от диплосомы к поверхности клетки



Анафаза

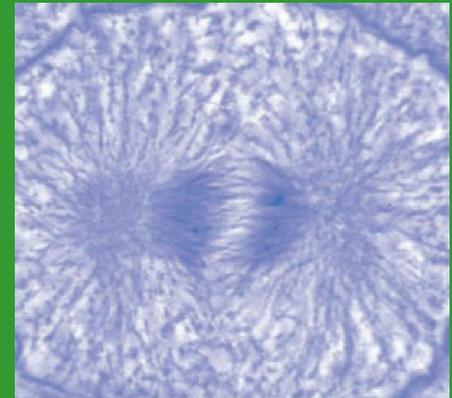
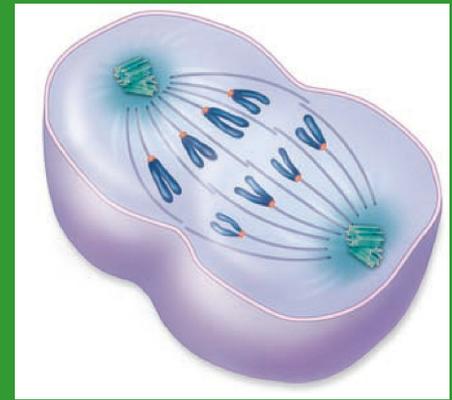
- самая короткая стадия митоза
- хроматиды расходятся к полюсам клетки
 - хроматиды ориентированы центромерными участками к полюсу, а теломерными – к экватору клетки
- пузырьки кариолеммы также мигрируют к полюсам клетки



Анафаза

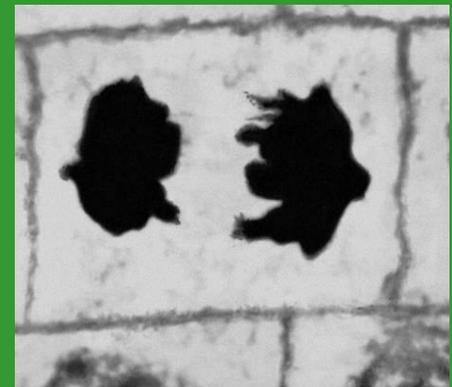
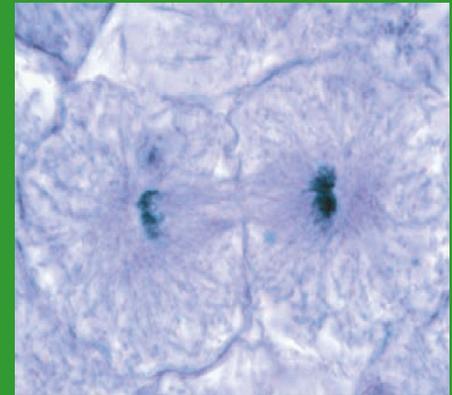
движение хромосом (2 причины):

- 1) изменение длины МТ веретена деления
 - укорочение кинетохорных МТ
 - удлинение полярных МТ – приводит к расхождению полюсов
- 2) участие белков-транслокаторов
 - одни перемещают хромосомы вдоль кинетохорных МТ
 - другие перемещают МТ в стороны друг от друга



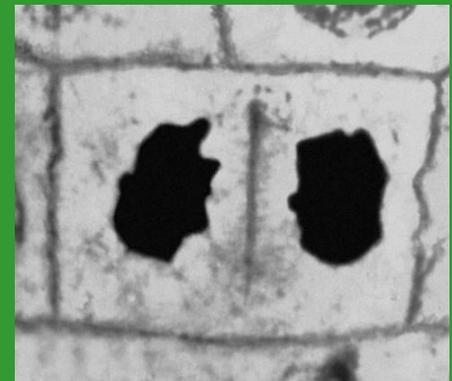
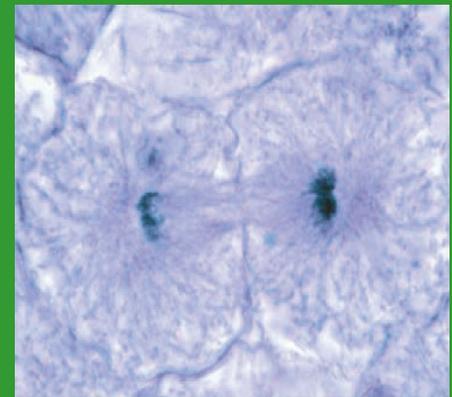
Телофаза

- с хромосомами ассоциируются пузырьки кариолеммы
 - в их стенки встраиваются комплексы ядерных пор
- через них в пузырьки проникают белки промежуточных филаментов, образующие ядерную ламину
- в результате – слияние пузырьков
- НО! сначала они образуют оболочку вокруг каждой хромосомы, формируя кариомеры
- слияние кариомер – формирование дочерних ядер



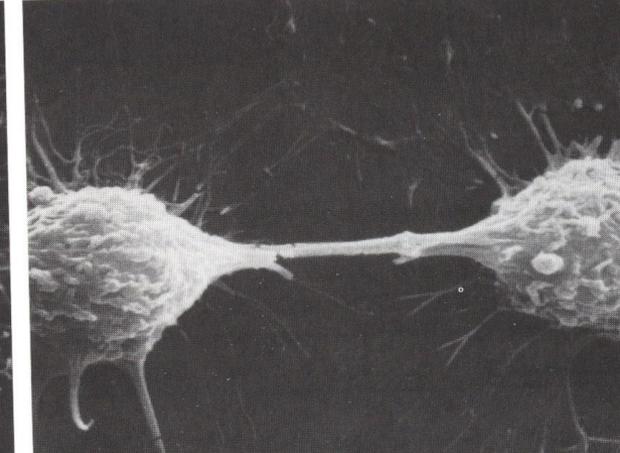
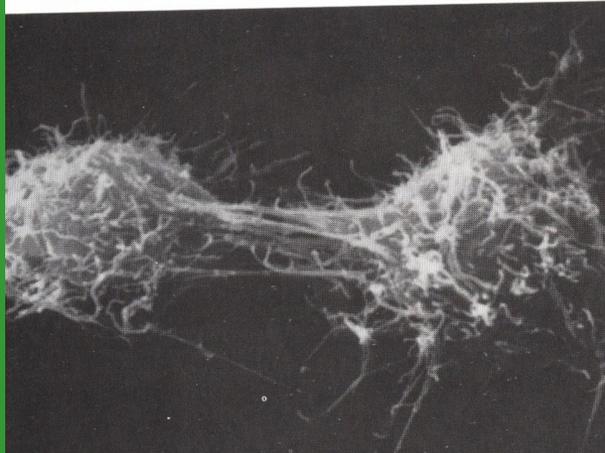
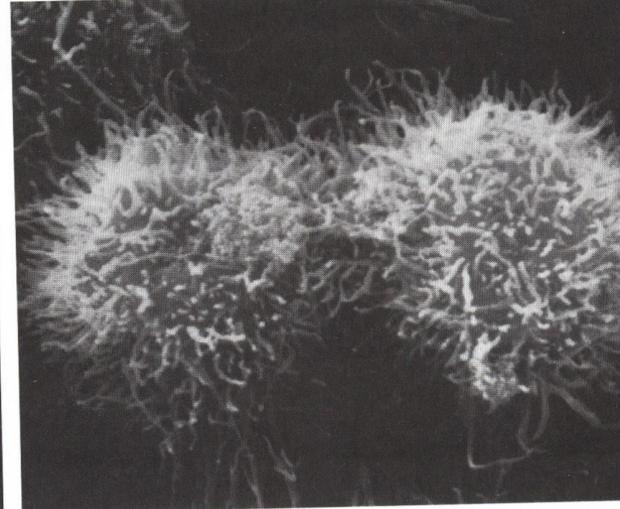
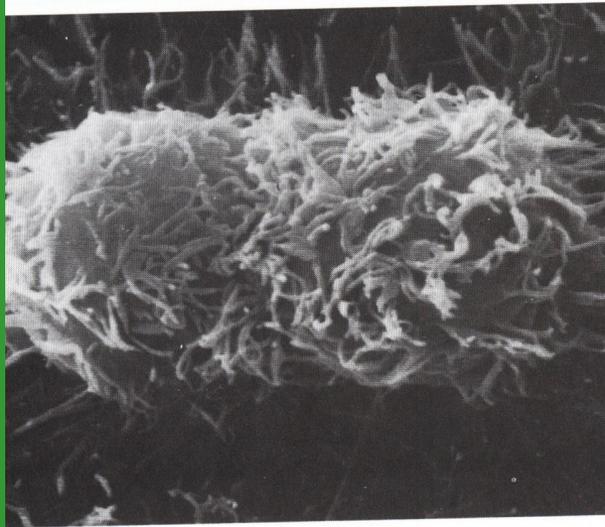
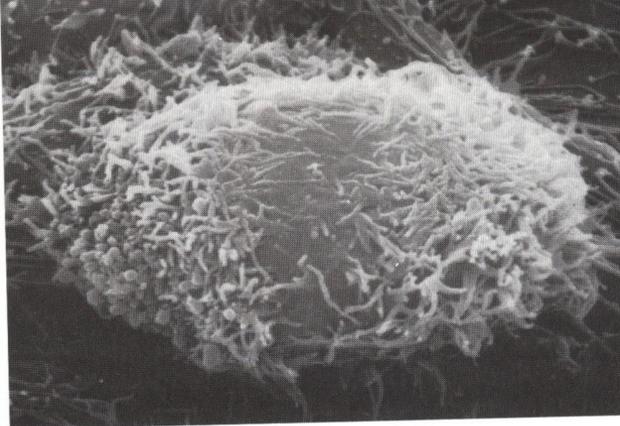
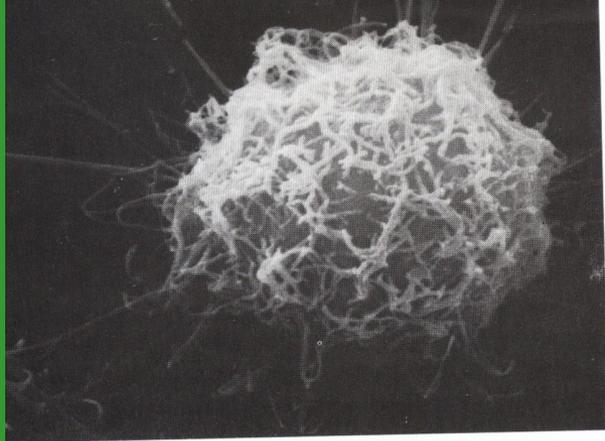
Цитокинез

- происходит в поздней телофазе
- по экватору клетки формируется актиномиозиновое кольцо
 - постепенно сжимаясь, кольцо стягивает плазмолемму, образуя перетяжку
- в результате – 2 дочерние клетки
- в клетках восстанавливаются ЭПС и комплекс Гольджи



Результаты цитокинеза:

- 1) Органеллы равномерно распределены между соседними клетками.
- 2) Сразу после деления дочерние клетки входят в фазу активного синтеза РНК и белка, что приводит к увеличению объема и ядра, и цитоплазмы.
- 3) Концентрация эндоплазматической сети и комплекса Гольджи восстанавливается в исходных значениях.
- 4) Митохондрии воспроизводятся делением, центриоли удваиваются прямо перед следующим делением.



Продолжительность митоза

Продолжительность митоза зависит от:

- размеров клеток
- их пloidности
- числа ядер
- условий окружающей среды (температура)

в животных клетках – 30-60 мин

в растительных – 2-3 часа

- более длительны стадии митоза, связанные с процессами синтеза (профаза, телофаза)
- движение хромосом (анафаза) осуществляется быстро

Пролиферация клеток и апоптоз

- Количество клеток в ткани регулируется двумя процессами – пролиферацией клеток и «программированной, или физиологической, гибелью клеток» (апоптозом)
 - Оба процесса в организме находятся под контролем стимулирующих или ингибирующих факторов, которые присутствуют в растворимой форме или экспрессируются на поверхности соседних клеток

Апоптоз

- Апоптоз – генетически запрограммированная гибель клеток, которая приводит к "аккуратной" разборке и удалению клеток
- Морфологическими признаками этого активного процесса являются изменения клеточной мембраны ("отшнуровывание" пузырьков, так называемых апоптотических телец), распад клеточного ядра, уплотнение хроматина и фрагментация ДНК
- Клетки, подвергшиеся апоптозу, распознаются макрофагами и другими фагоцитирующими клетками и быстро элиминируются
- Очень важно то, что при апоптозе не развивается воспалительный процесс

Апоптоз

- от греч. – опадание листьев



Причины апоптоза

две группы:

- «неудовлетворительное» состояние клетки («апоптоз изнутри»)
 - «негативная» сигнализация снаружи, передающаяся через специальные рецепторы клетки («апоптоз по команде»)

«Апоптоз изнутри»

повреждение хромосом:

- многочисленные разрывы ДНК
- нарушение конформации ДНК
- сшивки между цепями ДНК
- неправильная сегрегация хромосом

повреждения внутриклеточных мембран в результате перекисного окисления липидов

Причины повреждений

- разные виды облучений
- изменения температуры
- химические соединения
- нарушение питания клетки
- деление клетки
 - повреждение клеточных структур, ведущее к апоптозу, хотя и должно быть достаточно сильным, не может быть чрезмерно сильным
 - если повреждения клетки чрезмерны, процесс гибели становится неуправляемым и представляет собой некроз

«Апоптоз по команде»

клетка вполне жизнеспособна, но, с позиций целостного организма, она является ненужной или даже опасной

характерен:

1) на той или иной стадии эмбриогенеза – редукция ряда эмбриональных зачатков:

- хорды
- пронефроса
- частей мезонефрального протока,
- исчезновение межпальцевых перепонки

«Апоптоз по команде»

2) при формировании и функционировании иммунной системы

- гибель аутореактивных клонов лимфоцитов
- гибель стимулированных лимфоцитов при длительном отсутствии антигена
- гибель лимфоцитов под действием избытка глюкокортикоидов

3) при гемопоэзе

- гибель кроветворных клеток при недостатке колониестимулирующих факторов

«Апоптоз по команде»

4) при функционировании женской половой системы

- гибель клеток атрезии фолликулов
- гибель клеток редуцирующего желтого тела
- гибель клеток функционального слоя эндометрия накануне менструаций
- гибель лактоцитов молочной железы после прекращения лактации

Регуляция апоптоза

- одним из важнейших инструментов апоптоза является семейство цитоплазматических протеаз – каспаз
 - каспазы способны в определенной последовательности активировать друг друга

к активации каспаз могут приводить:

- сигналы от рецепторов
- отсутствие ростового фактора
- потеря связи с опорным субстратом
- контакт клеток друг с другом
- действие α -ФНО фактор некроза опухолей
- факторы, высвобождающиеся из митохондрий
- протеаза AIF
- цитохром c

Регуляция апоптоза

мишени каспаз:

- некоторые белки цитоскелета (→ изменение формы клетки – появление инвагинаций и выступов)
- гистон H1 (→ конденсация хроматина)
- ламин B (→ распад ядерной оболочки)
- ферменты репликации и репарации (→ активация белка p53)
- регуляторные белки
- ингибиторы эндонуклеаз (→ активация эндонуклеаз – фрагментация ДНК)

Митохондриальные факторы апоптоза

- протеаза AIF и цитохром с – активаторы каспазного каскада
- в митохондриях – специальные каналы для транспорта этих белков
 - белки Bcl-2 – закрывают каналы и препятствуют апоптозу
- белки Bax – открывают каналы и стимулируют апоптоз

Белок p53

= транскрипционный фактор

активируется в ответ на разнообразные повреждения клеточной структуры:

- нерепарированные разрывы и другие повреждения ДНК
- нарушение расхождения хромосом в митозе
- разрушение микротрубочек

Белок p53

активирует гены:

- ряда рецепторов, воспринимающих команду об апоптозе
- отвечающие за остановку клеточного деления
- белка Вах, открывающего каналы митохондрий

ингибирует гены:

- белков Bcl-2, закрывающие каналы митохондрий

тормозит:

- ангиогенез
- пролиферацию соседних клеток

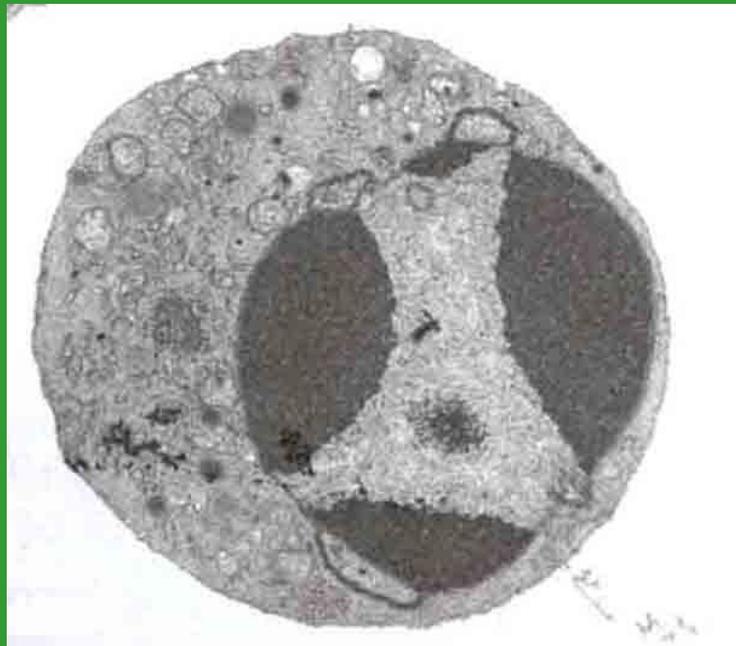
Итоги действия белка p53

клетка:

- либо задерживается на той или иной стадии митотического цикла и исправляет эти повреждения
- либо (при невозможности исправления) прекращает делиться и вступает в процесс клеточного старения
- либо (при потенциальной опасности поврежденной клетки для ее окружения) осуществляет апоптоз

Морфология апоптоза

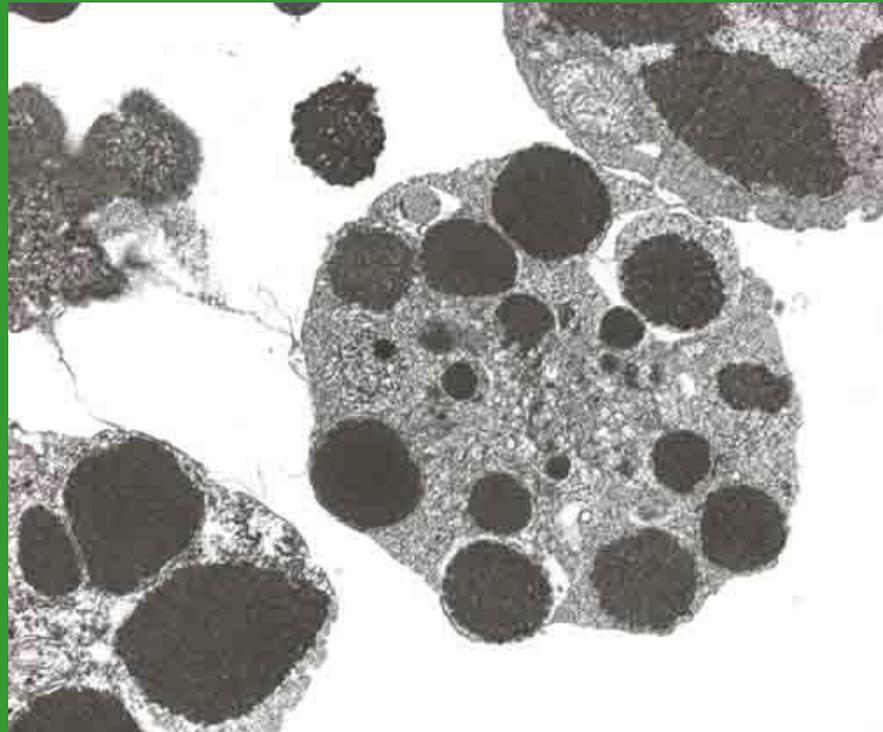
- 1) конденсация хроматина и некоторое сжатие клетки (из-за конденсации цитоплазмы)
 - хроматин приобретает вид плотных и резко исчерченных гомогенных масс, расположенных по периферии ядра



Морфология апоптоза

2) фрагментация ядра

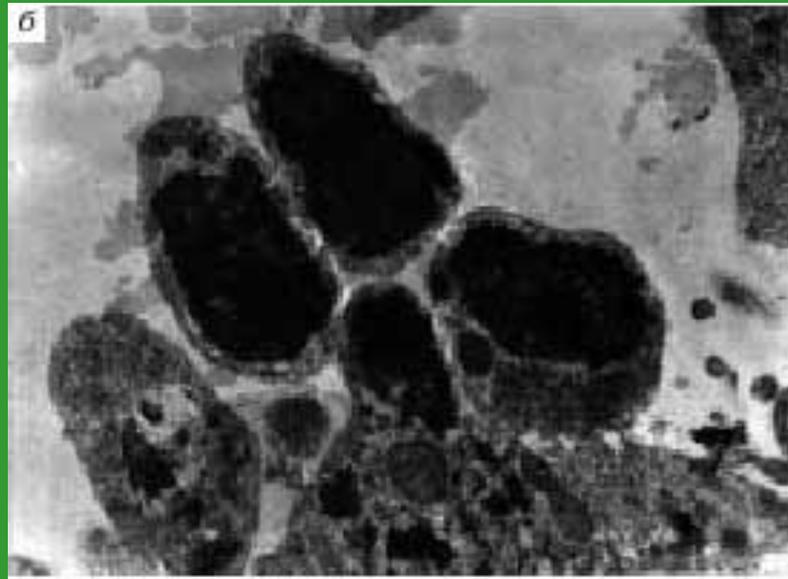
- ядро распадается на отдельные фрагменты, окруженные ядерной оболочкой и содержащие очень плотные массы хроматина



Морфология апоптоза

3) изменение формы клетки

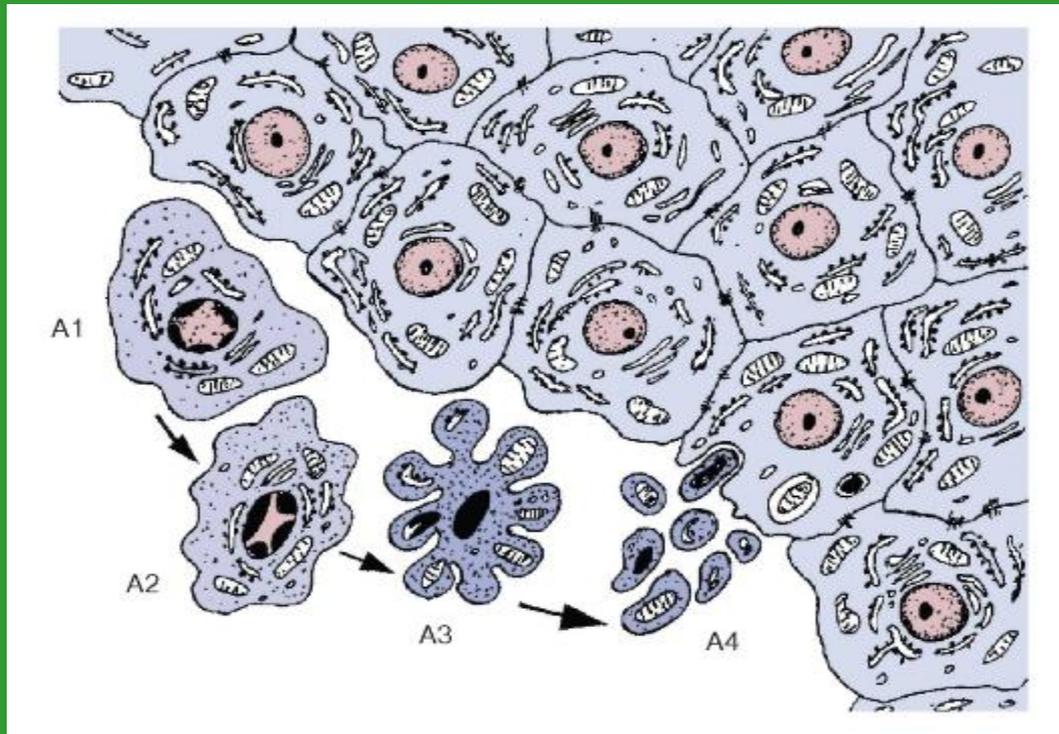
- на поверхности клетки появляются инвагинации
- цитоплазма приобретает вид лопастей с постепенно суживающимися ножками
- в конечном итоге клеточные фрагменты отшнуровываются и образуются апоптозные тельца

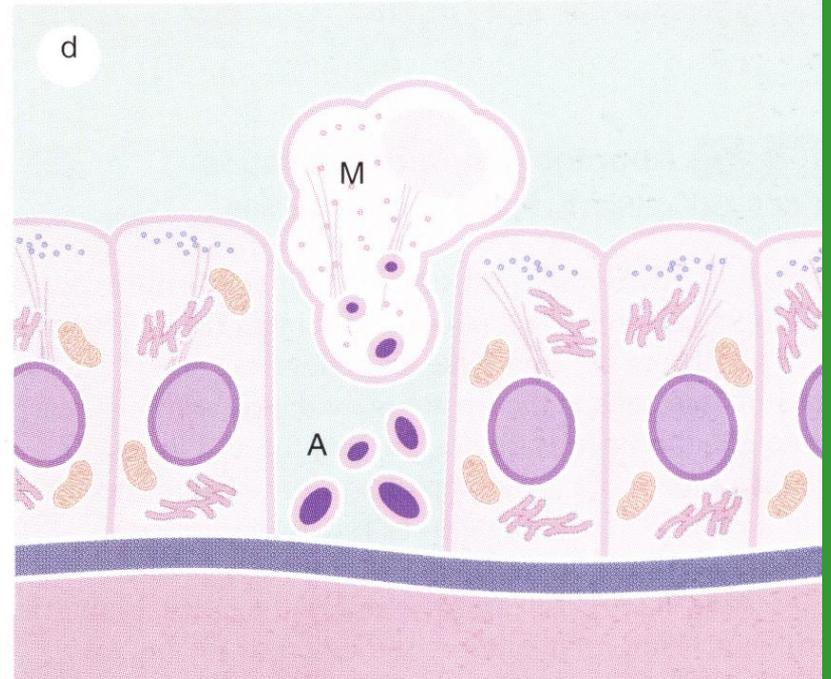
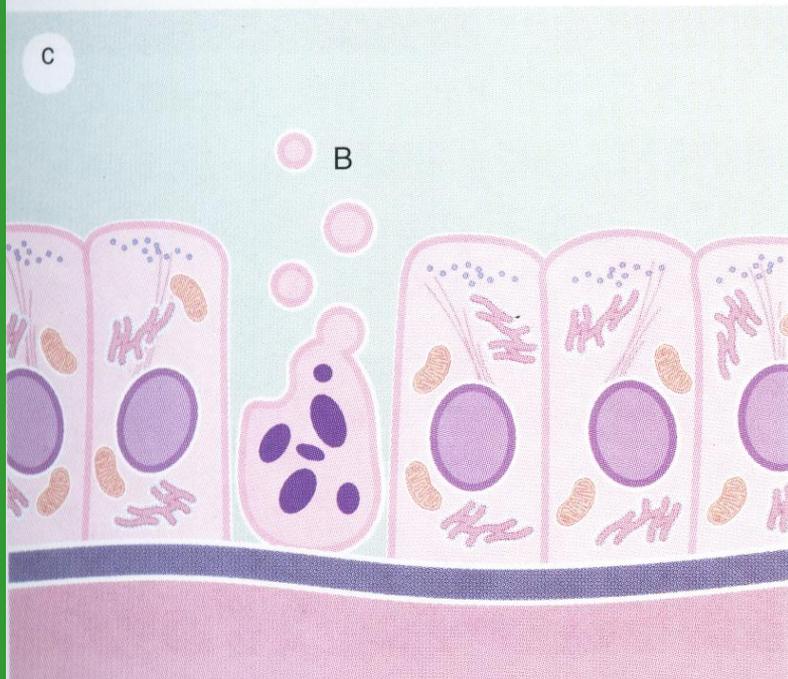
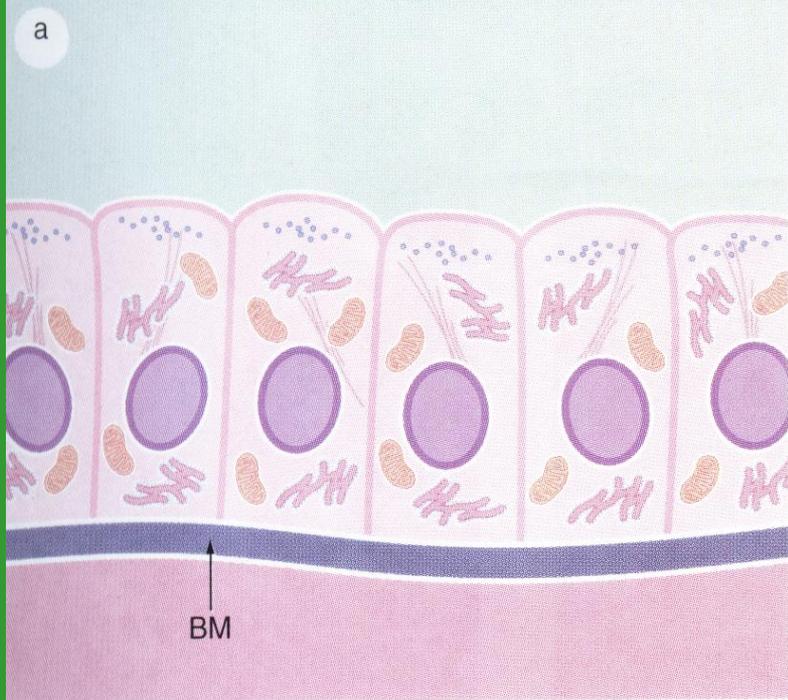


Морфология апоптоза

4) фагоцитоз апоптозных телец окружающими клетками

- к фагоцитозу апоптозных телец способны не только фагоциты, но и прочие окружающие клетки





Сравнительная характеристика апоптоза и некроза

Признак	Апоптоз	Некроз
Индукция	Активируется физиологическими или патологическими стимулами	Различная в зависимости от повреждающего фактора
Распространенность	Одиночная клетка	Группа клеток
Биохимические изменения	Энергозависимая фрагментация ДНК эндогенными эндонуклеазами. Лизосомы интактные.	Нарушение или прекращение ионного обмена. Из лизосом высвобождаются ферменты.
Распад ДНК	Внутриядерная конденсация с расщеплением на фрагменты	Диффузная локализация в некротизированной клетке
Целостность клеточной мембраны	Сохранена	Нарушена
Морфология	Сморщивание клеток и фрагментация с формированием апоптотических телец с уплотненным хроматином	Набухание и лизис клеток
Воспалительный ответ	Нет	Обычно есть
Удаление погибших клеток	Поглощение (фагоцитоз) соседними клетками	Поглощение (фагоцитоз) нейтрофилами и макрофагами

Старение клетки

с возрастом прогрессивно страдает ряд функций клеток:

- снижаются окислительное фосфорилирование в митохондриях
- снижается синтез ферментов
- снижается образование белков рецепторов клеток
- снижена способность к поглощению питательных веществ
- снижена активность репарации хромосомных повреждений

Теломерная теория старения

- сформулирована А.М. Оловниковым в 1971 г
 - во всех соматических клетках организма механизм репликации теломер отсутствует
 - при делениях клеток теломеры постепенно укорачиваются
 - при приближении длины теломер к критическому уровню клетки начинают стареть, а по достижению этого уровня – погибают
 - в линии половых клеток функционирует механизм поддержания длины теломер

Факты, подтверждающие теорию

- при каждом делении клетки длина теломерных участков сокращается на 50-100 н.п.
- в половых клетках теломеры длиннее, чем в соматических
 - с возрастом теломеры половых клеток остаются стабильными
 - при введении в клетку ген теломеразы количество делений увеличивается, т.е. поддержание длины теломер предупреждает остановку деления и гибель культуры

Дополнительные предположения

Как укорочение длины теломер влияет на клетку?

- достаточно длинные теломеры вызывают репрессию активности прилежащих генов – при укорочении теломер эти гены активируются
- в местах прикрепления теломер к внутренней ядерной мембране находятся Ca^{**} -каналы и поток ионов через них создает условия для функционирования генов – при укорочении теломер теряется связь с мембраной, отчего гены оказываются дальше от каналов

Морфологические изменения клетки при старении

- неправильные и дольчатые ядра
- полиморфные вакуолизированные митохондрии
- уменьшение эндоплазматического ретикулума
- деформация комплекса Гольджи
- накопление пигмента липофусцина

