

Типы клеточной гибели



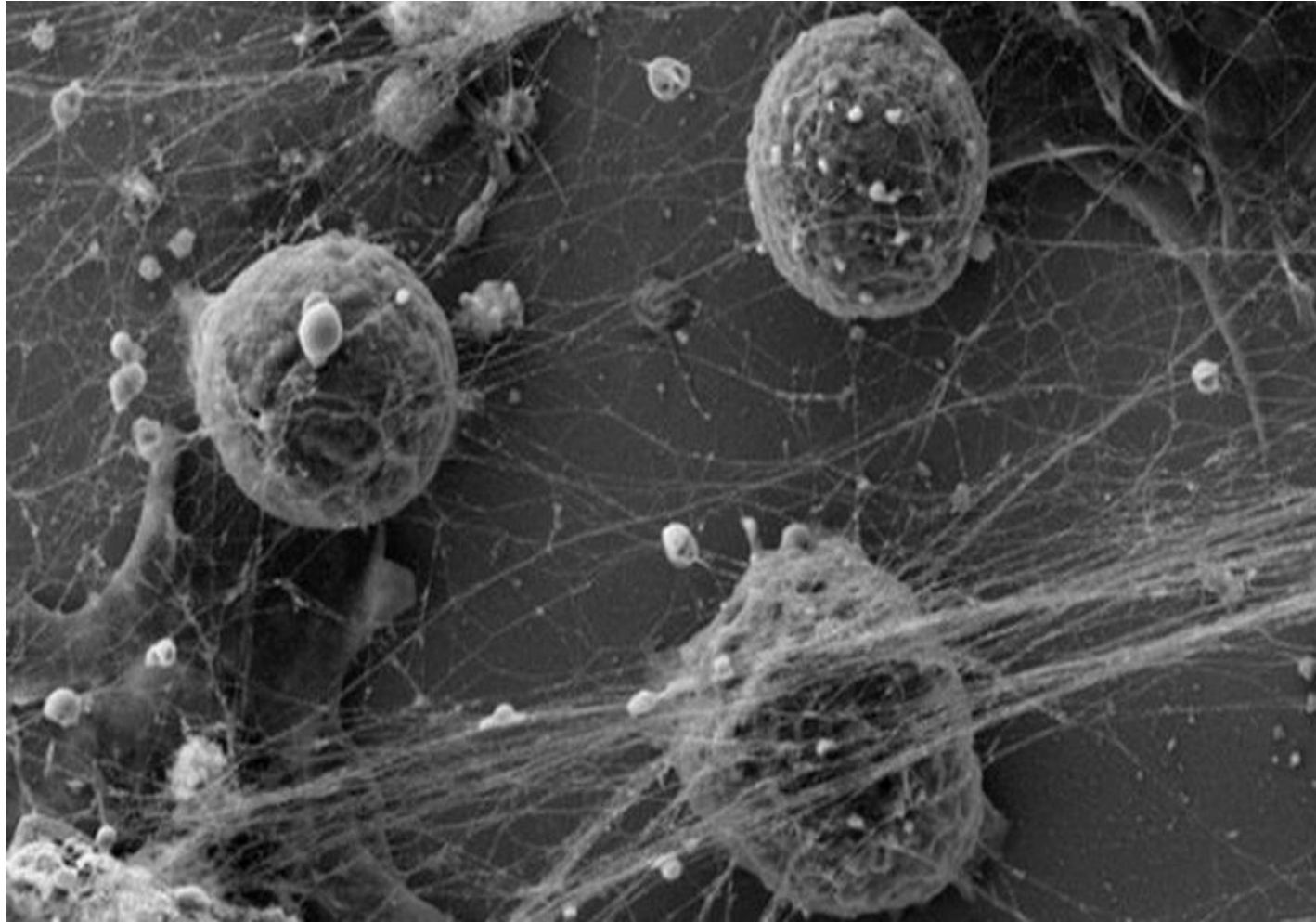
Механизмы

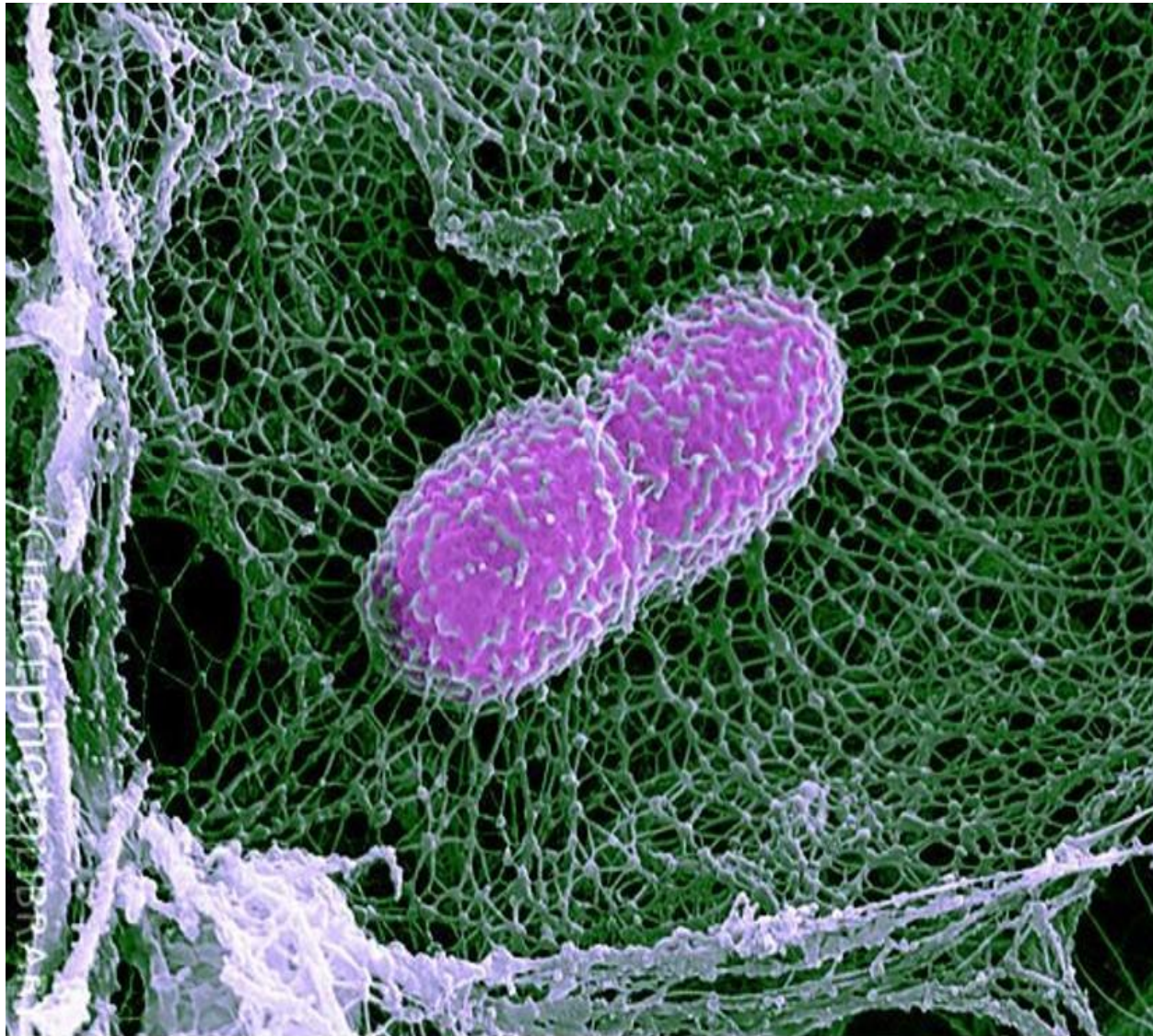
Виды клеточной гибели

- 1. Апоптоз**
- 2. Некроз/некроптоз**
- 3. Нетоз**
- 4. Аутофагия**
- 5. Клеточный каннибализм или энтоз**
- 6. Митотическая катастрофа**
- 7. Пироптоз**
- 8. Корнификация**
- 9. Партанотоз**

3. Нетоз

- **Нетоз** — основной тип клеточной смерти нейтрофилов наравне с апоптозом и некрозом.
- В 2004 г. Volker Brinkmann et al. был открыт механизм, посредством которого нейтрофилы осуществляют защитные функции, названный **нетозом** (от англ. NETosis (от **NET** — **Neutrophil Extracellular Trap**)
- При нетозе нейтрофил проходит стадии 1) деконденсации хроматина, 2) наработки АФК, 3) дегрануляции; затем следует **4) выброс ДНК-сети (ДНК-ловушки)**, связанной с АФК, гистонами, миелопероксидазой и другими молекулами, повреждающими патоген. Патогены - бактерии, грибы, паразиты и вирусы «запутываются» в сетях и гибнут.
- **Нейтрофильные ДНК-ловушки** связаны с патогенезом различных заболеваний, таких как сепсис, ревматоидный артрит, тромбоз, волчанка и др. аутоиммунные заболевания.
- Другие клетки крови, такие как **моноциты, эозинофилы, базофилы** также имеют подобный механизм, называемый **этозом** (от англ. ETosis (от ET — Extracellular Trap)





Klebsiella pneumoniae in NET

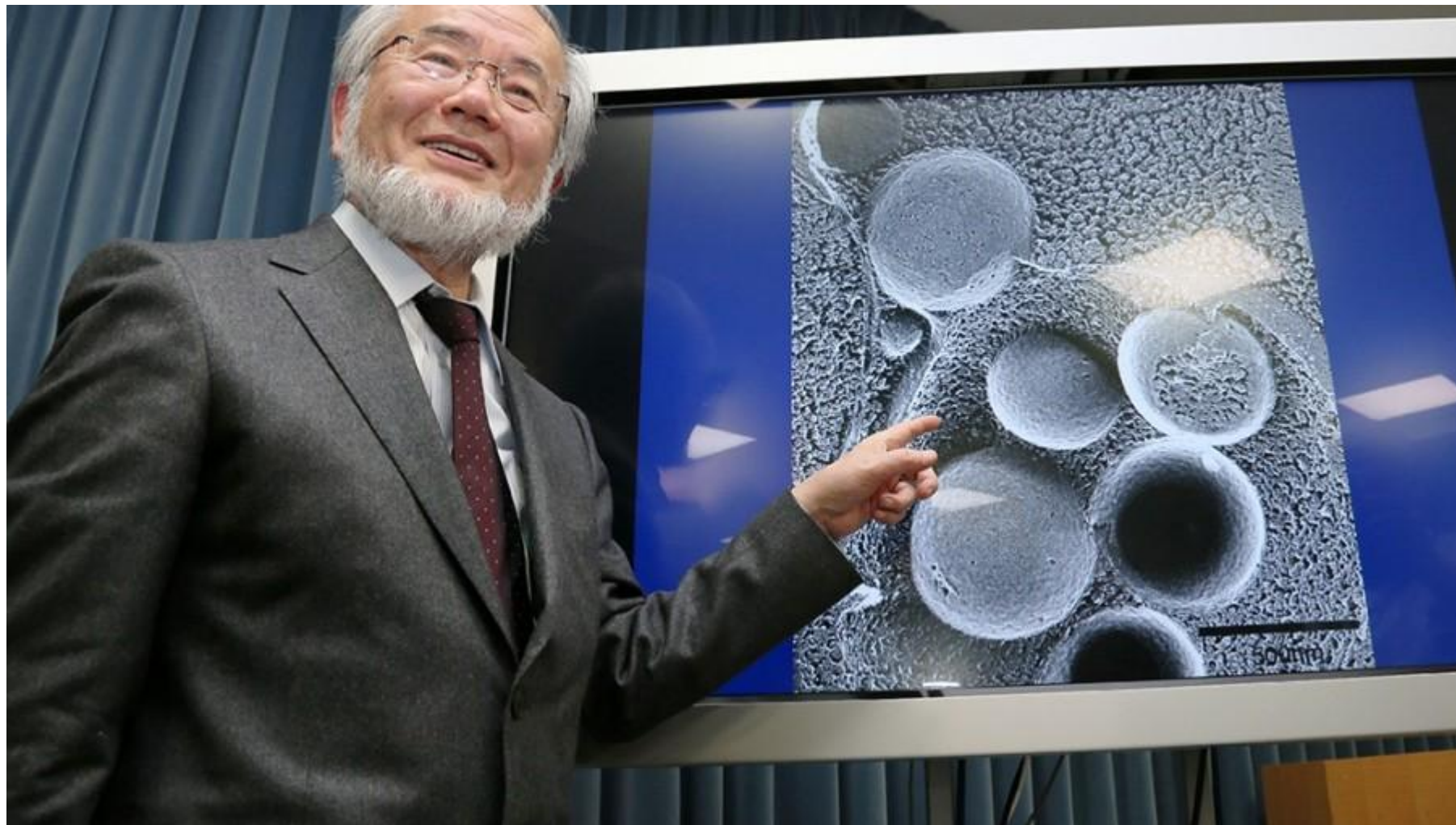
4. Аутофагия

- **Аутофагия** (от греч. αὐτός — «само» и φαγεῖν — «есть»: *самопоедание*) - **клеточный механизм утилизации избыточных или поврежденных белков, белковых комплексов и клеточных органелл, осуществляемый лизосомами той же клетки.**

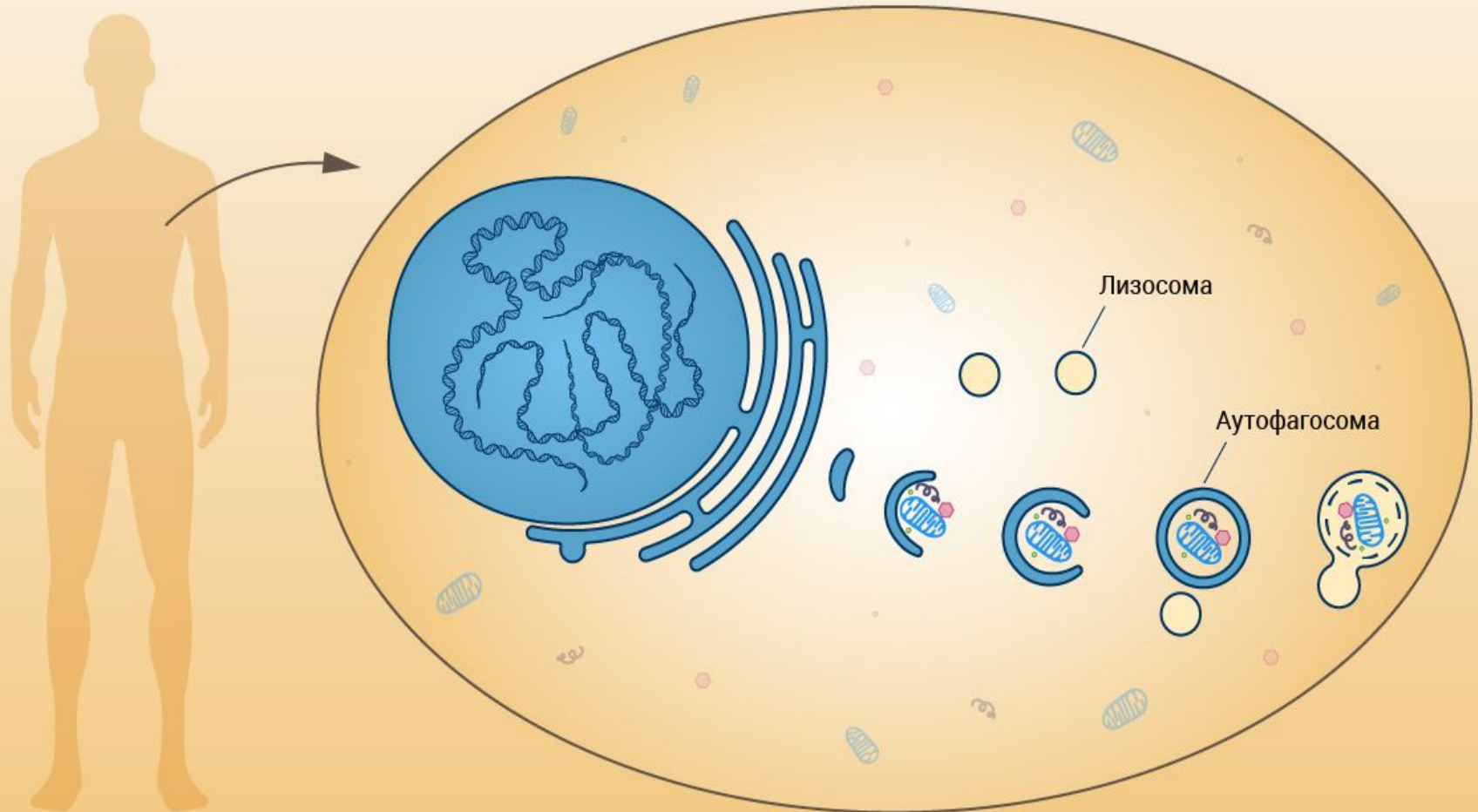
Аутофагия выполняет несколько важных функций:

- 1) получение питательных веществ при голодании,
 - 2) поддержка клеточного гомеостаза и клеточного иммунитета,
 - 3) осуществление апоптоза и др.
- **Стимулы к запуску аутофагии:**
 - 1) отсутствие факторов роста или недостаточность нутриентов
 - 2) наличие поврежденных органелл (митохондрий, пероксисом)

Лауреатом Нобелевской премии по физиологии и медицине в 2016 году стал Ёсинори Осуми (Yoshinori Ohsumi) "За открытие механизмов аутофагии".



Органелла аутофагосома поглощает "мусорное" содержимое клеток, а затем сливается с лизосомой, внутри которой "отбросы" расщепляются ферментами



Аналоги аутофагии на различных уровнях организации живого.

Биосистема

Процесс

Примеры

Клетка

Аутофагия

Митофагия (утилизация митохондрий)

Пексофагия (утилизация пероксисом)

Рибофагия (утилизация рибосом)

Ретикулофагия (утилизация эндоплазматического ретикулума)

Организм

Спячка, голодание

Апоптоз (утилизация клеток)

Потребление собственных тканей (жировая ткань)

Оофагия (эмбрионы акулы поедают менее развитых собратьев)

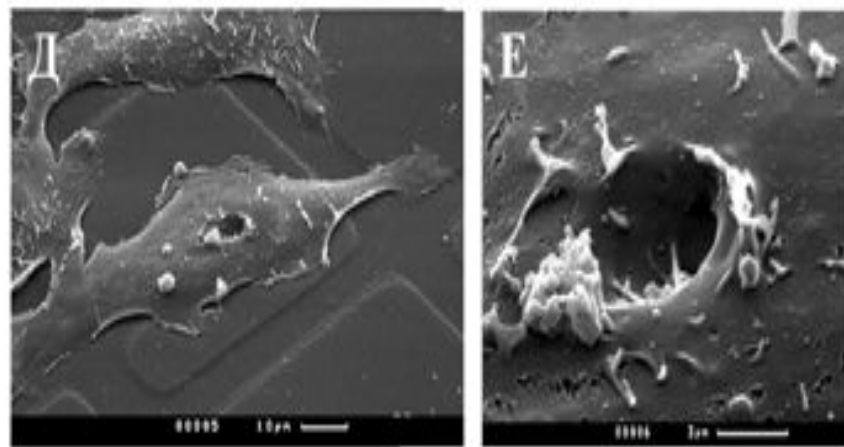
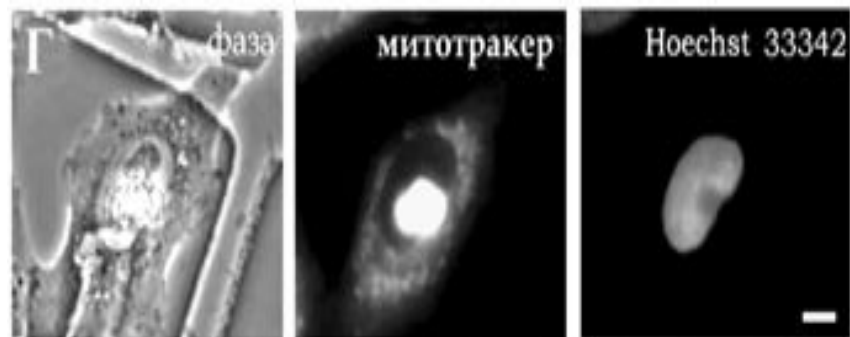
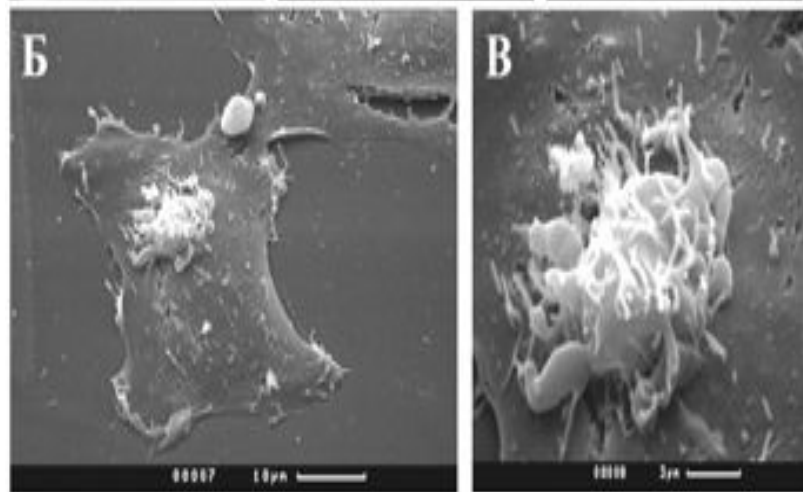
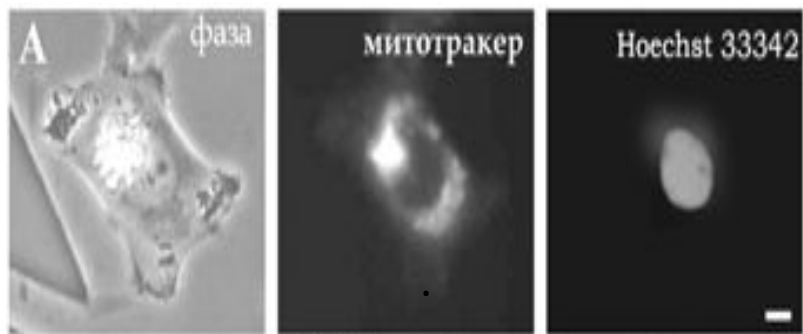
**Экосистемы
и популяции**

Трофические цепи

Хищник–жертва

*Травоядные животные–
растения*

Образование митоптического тельца и митоптоз



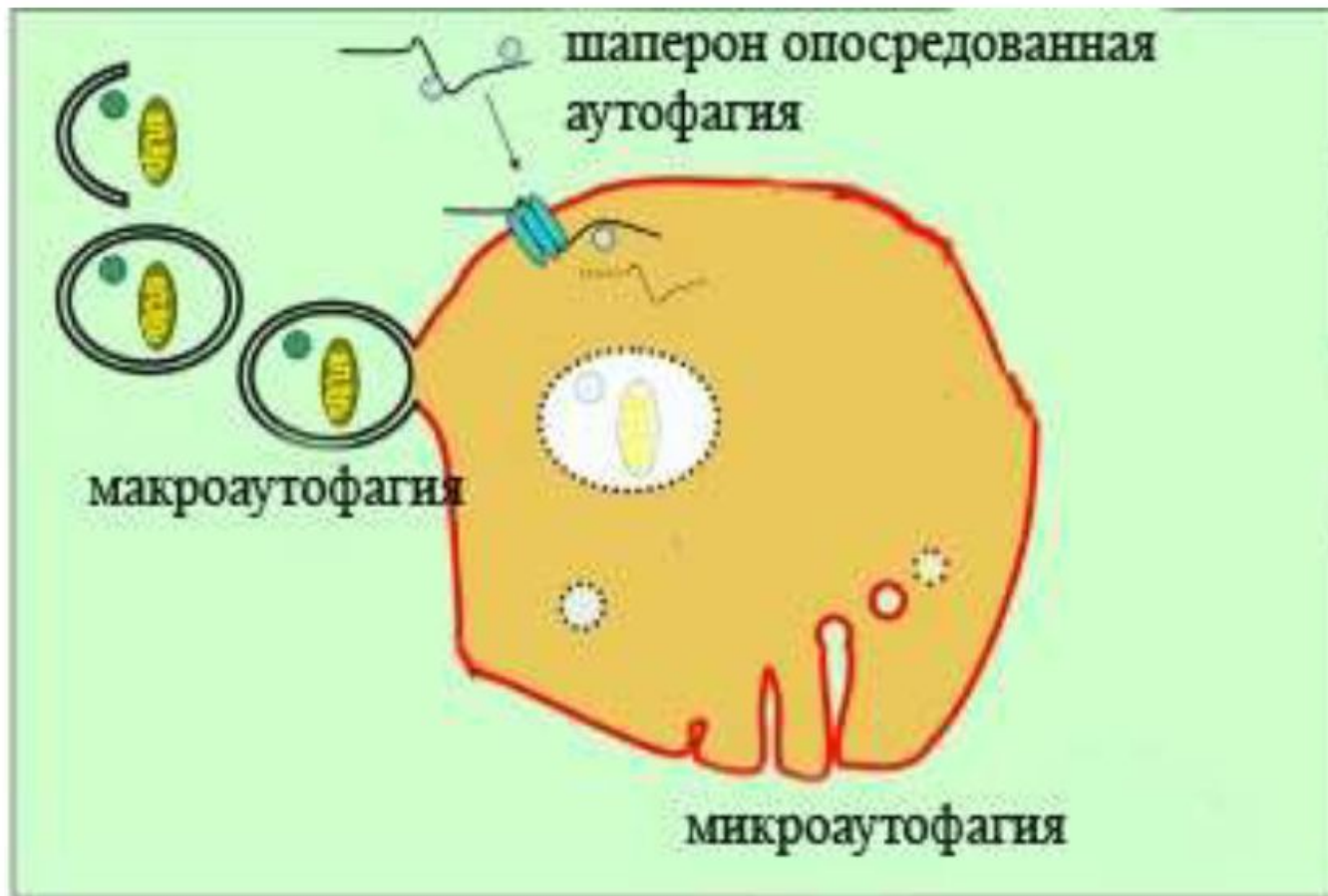
Признаки аутофагии

- 1) Частичная конденсация хроматина
- 2) Пикноз ядра
- 3) Отсутствие фрагментации ядра и клетки на поздних стадиях гибели
- 4) Отсутствие деградации ДНК до нуклеосомного уровня
- 5) Увеличение числа аутофагосом и аутофаголизосом
- 6) Увеличение лизосомной активности
- 7) Увеличение аппарата Гольджи
- 8) Иногда возрастание проницаемости митохондрий
- 9) Отсутствие активации каспаз

Типы аутофагии

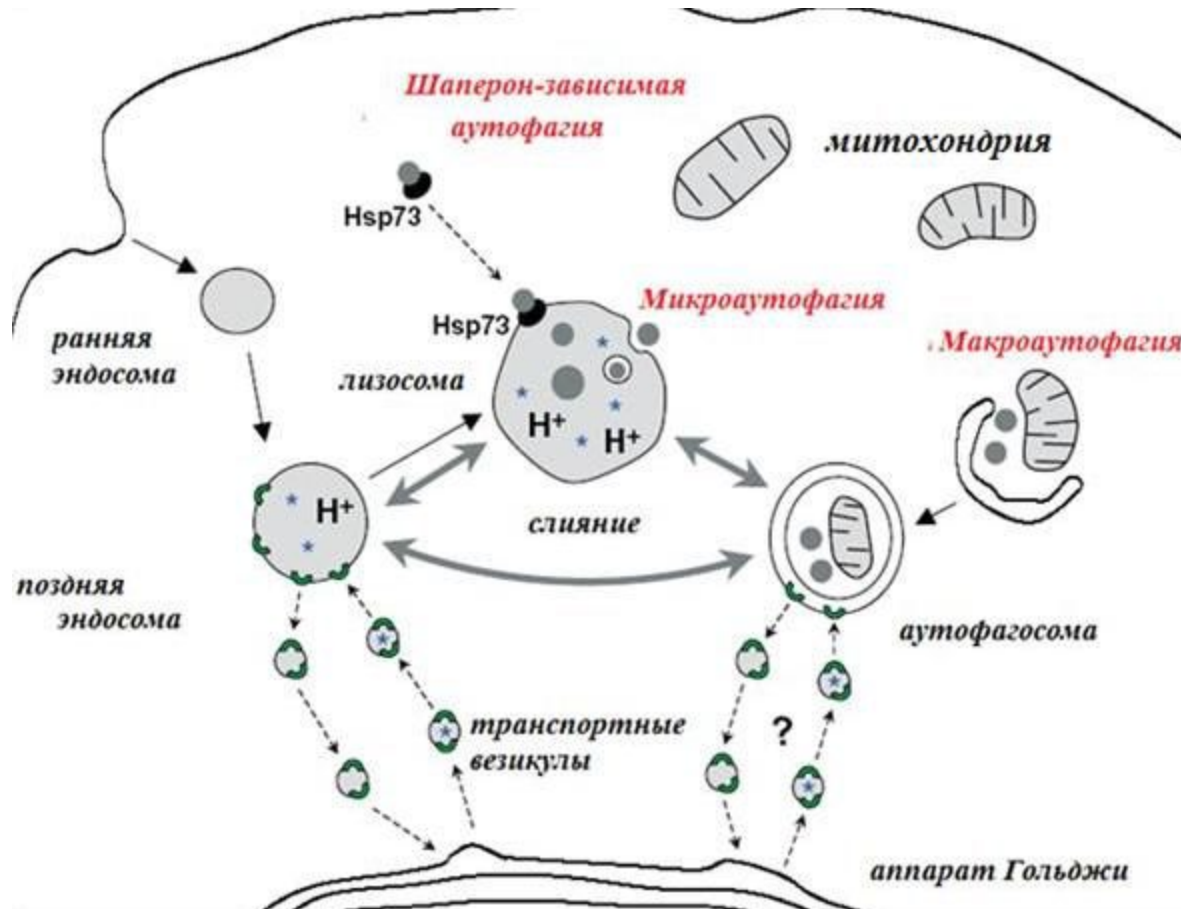
- 1. Микроаутофагия** — макромолекулы и фрагменты мембраны попадают в лизосому путем инвагинации ее мембраны.
- 2. Макроаутофагия** - образование **аутофагосом**, которые соединяются с лизосомами с образованием **аутофаголизосом**. Макроаутофагия контролируется **специфическими генами *Atg* (*autophagy-related gene*)** и вовлечена в процесс деградации митохондрий, эндоплазматического ретикулума, пероксисом, рибосом, а также различных белков, липидов и РНК.
- 3. Шаперон-зависимая аутофагия** — направленный транспорт денатурировавших белков в лизосомы для деградации, происходит с помощью **белков-шаперонов Hsp70** и **белков LAMP-2** (lysosome-associated membrane protein type 2A).

Аутофагия - процесс лизосомальной деградации цитоплазматического материала



- При *шаперон-опосредованной аутофагии* происходит направленный транспорт частично денатурировавших белков из цитоплазмы сквозь мембрану лизосомы в ее полость, где они перевариваются
- при *микроаутофагии* макромолекулы и обломки клеточных мембран захватываются лизосомой и перевариваются.
- *Макроаутофагия* характеризуется образованием аутофагосом и аутолизосом

Типы аутофагии



Стадии аутофагии

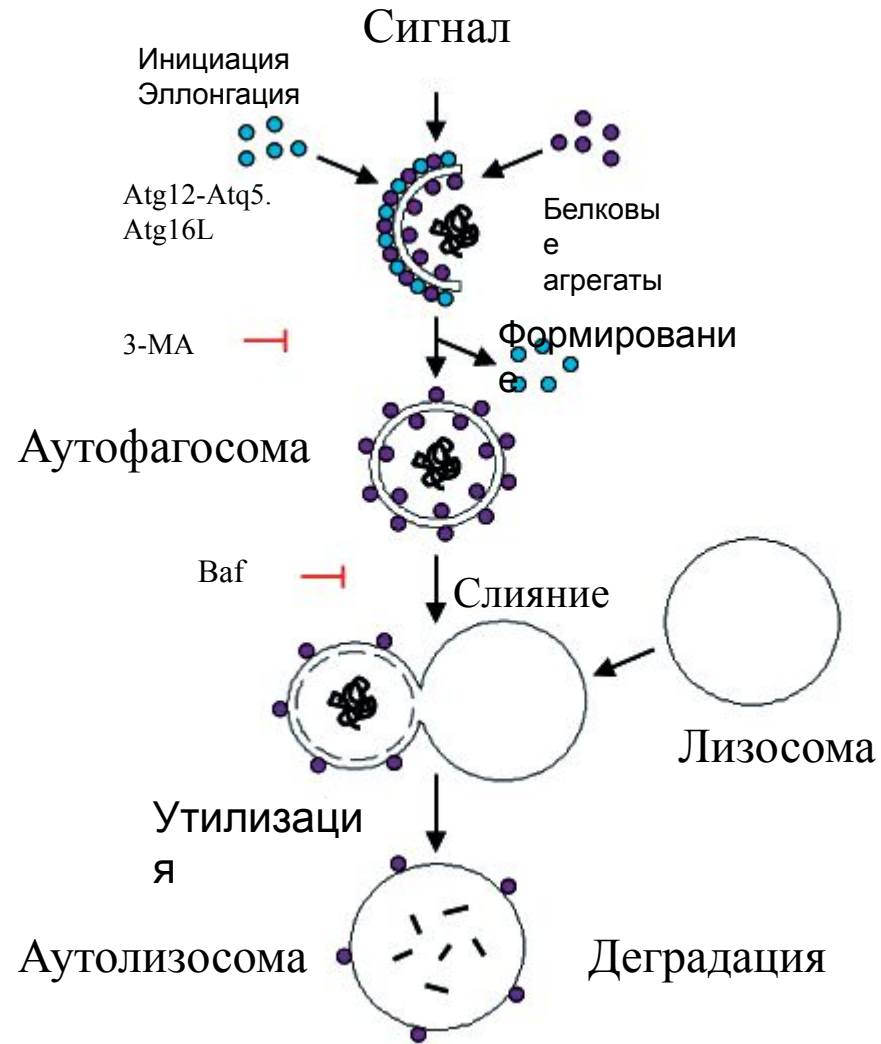
1.Инициация

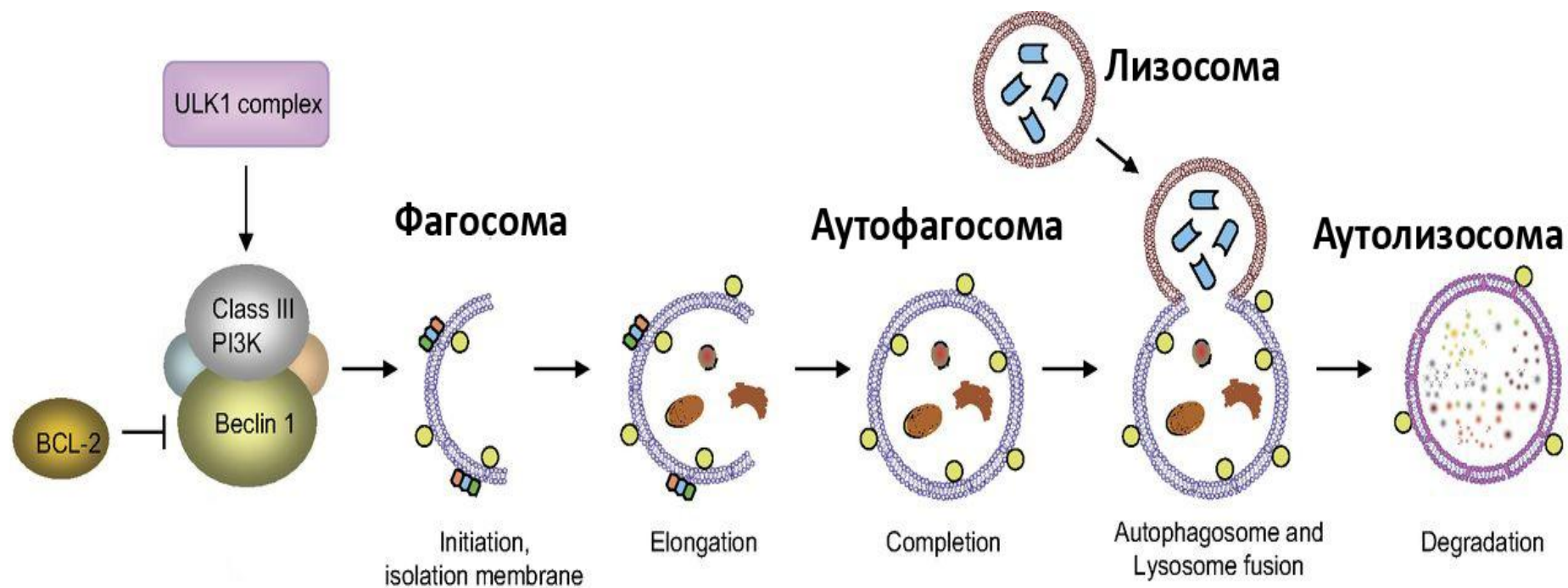
2. Элонгация

3. Формирование аутофагосомы

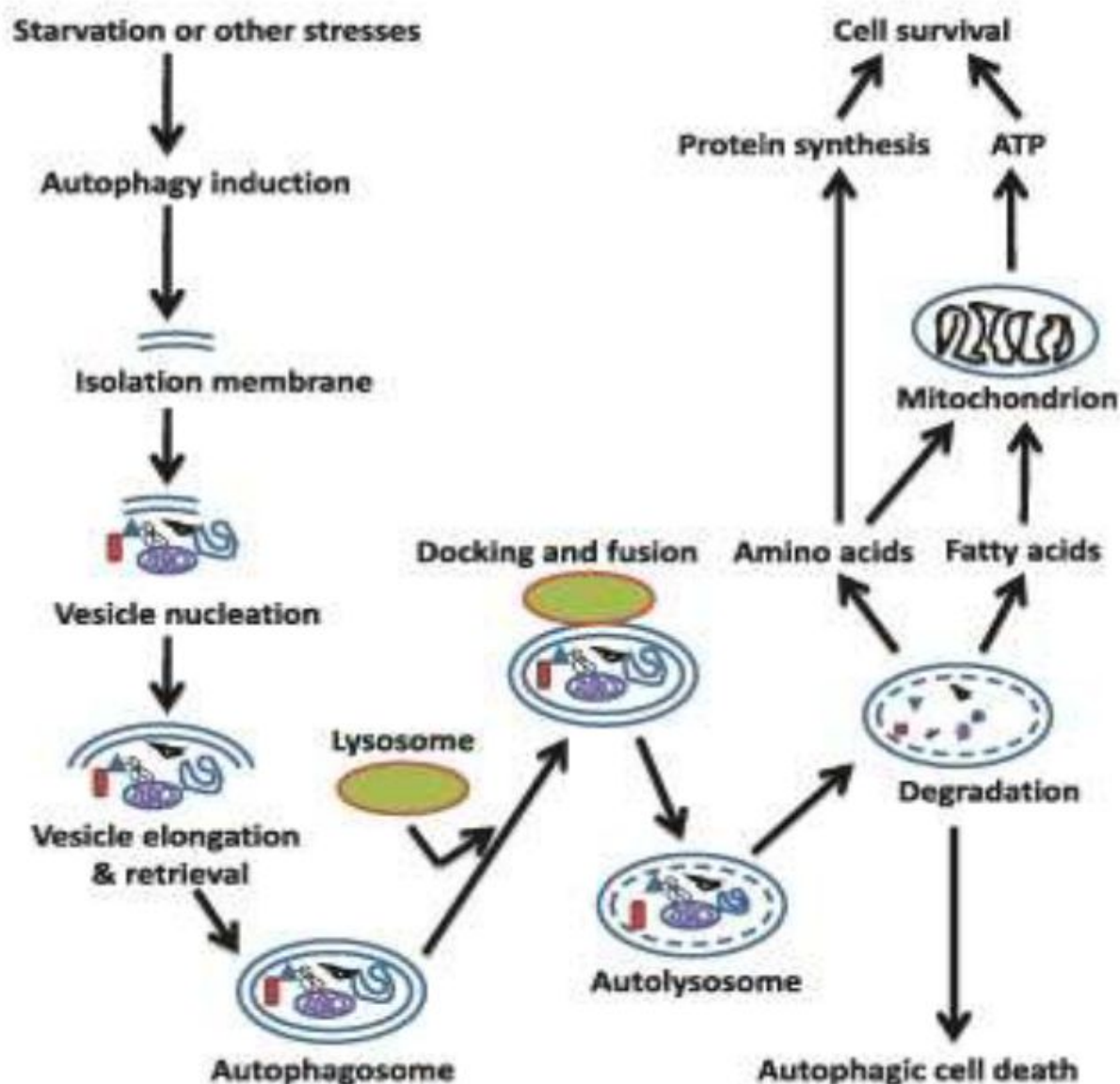
4. Формирование аутолизосомы

Механизм аутофагии

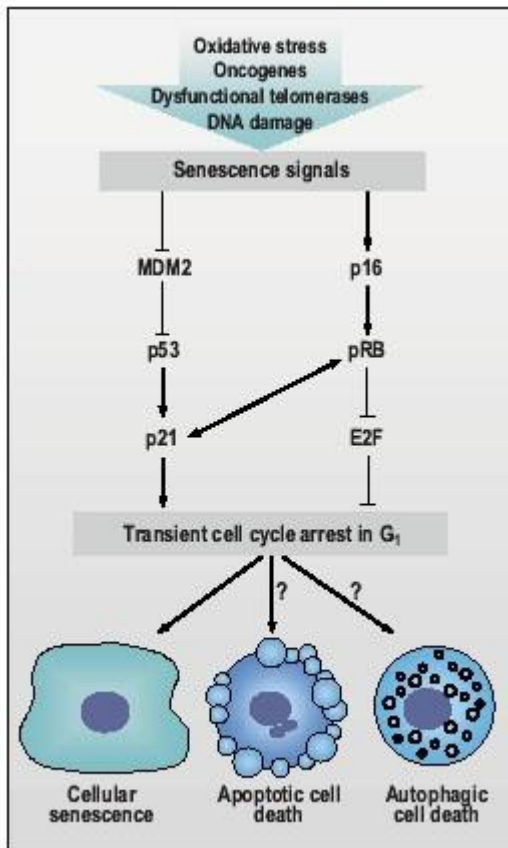
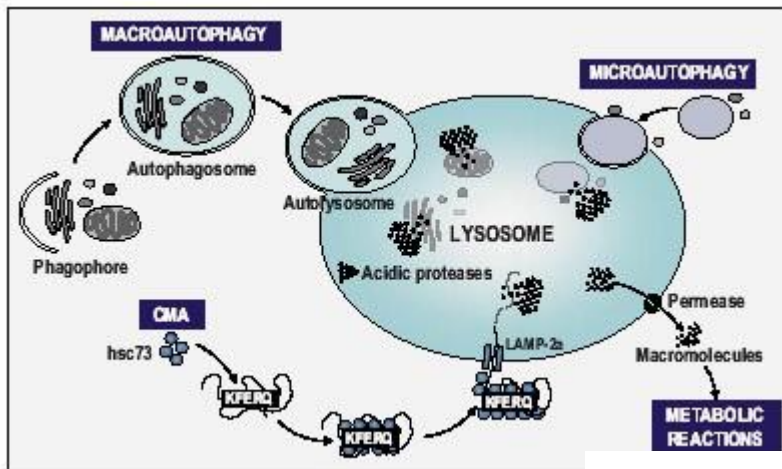




Модель аутофагии и аутофагического типа клеточной гибели

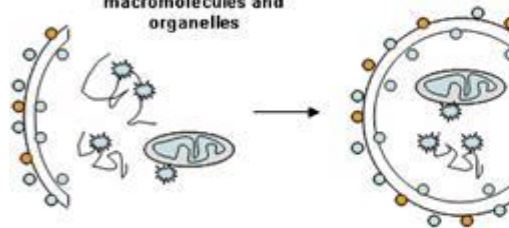


Аутофагия



Nucleation and elongation

Aberrant, damaged macromolecules and organelles



○ Atg8-PE/LC3-II

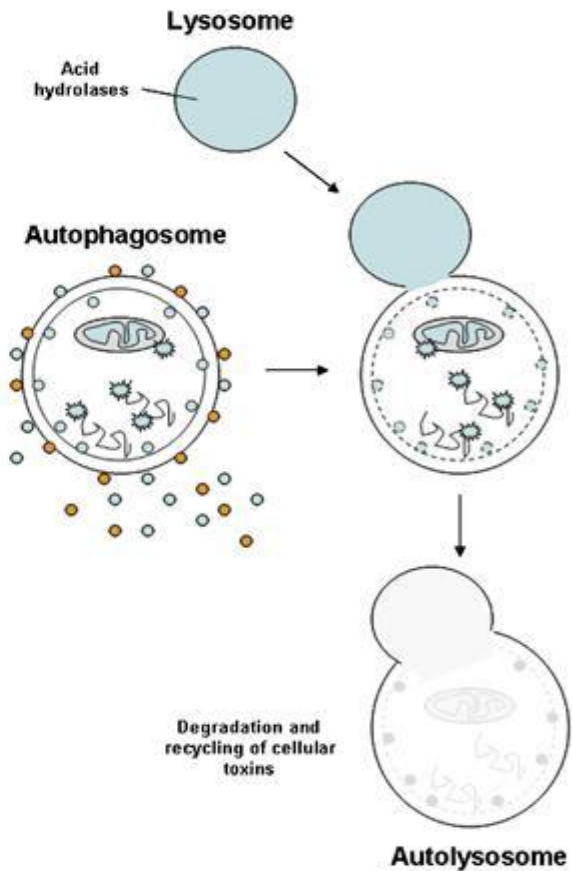
● Atg12-Atg5-Atg16 complex

⚡ ROS

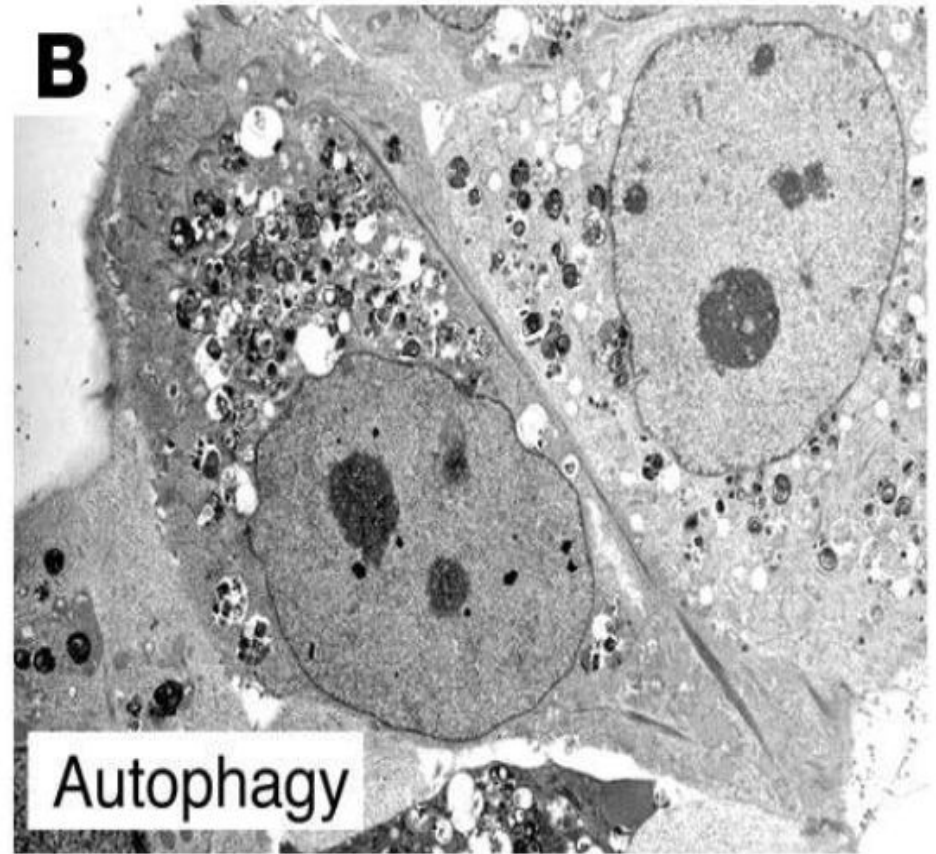
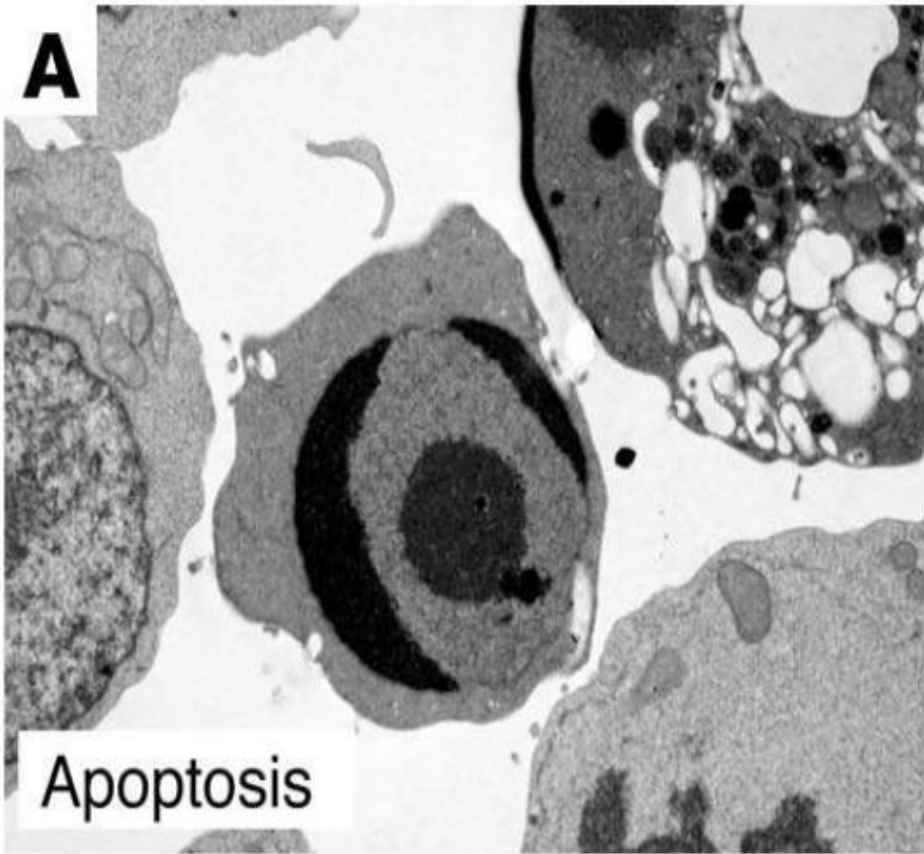
⌚ Mitochondrion

⌚ protein

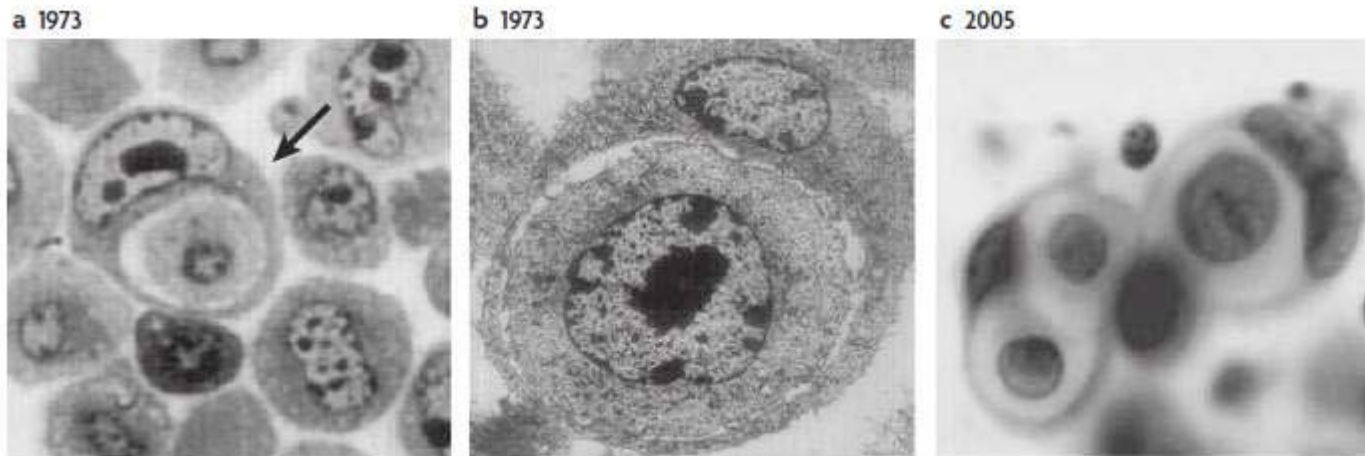
⚡ aberrant, oxidized protein



Сравнение ультраструктуры клеток при апоптозе и аутофагическом типе клеточной смерти



5. Клеточный каннибализм (КК) - это явление, при котором одна клетка внедряется в другую клетку, в результате чего образуются структуры “клетка-в-клетке”. Частный случай КК – **энтоз** (лимфобласты)



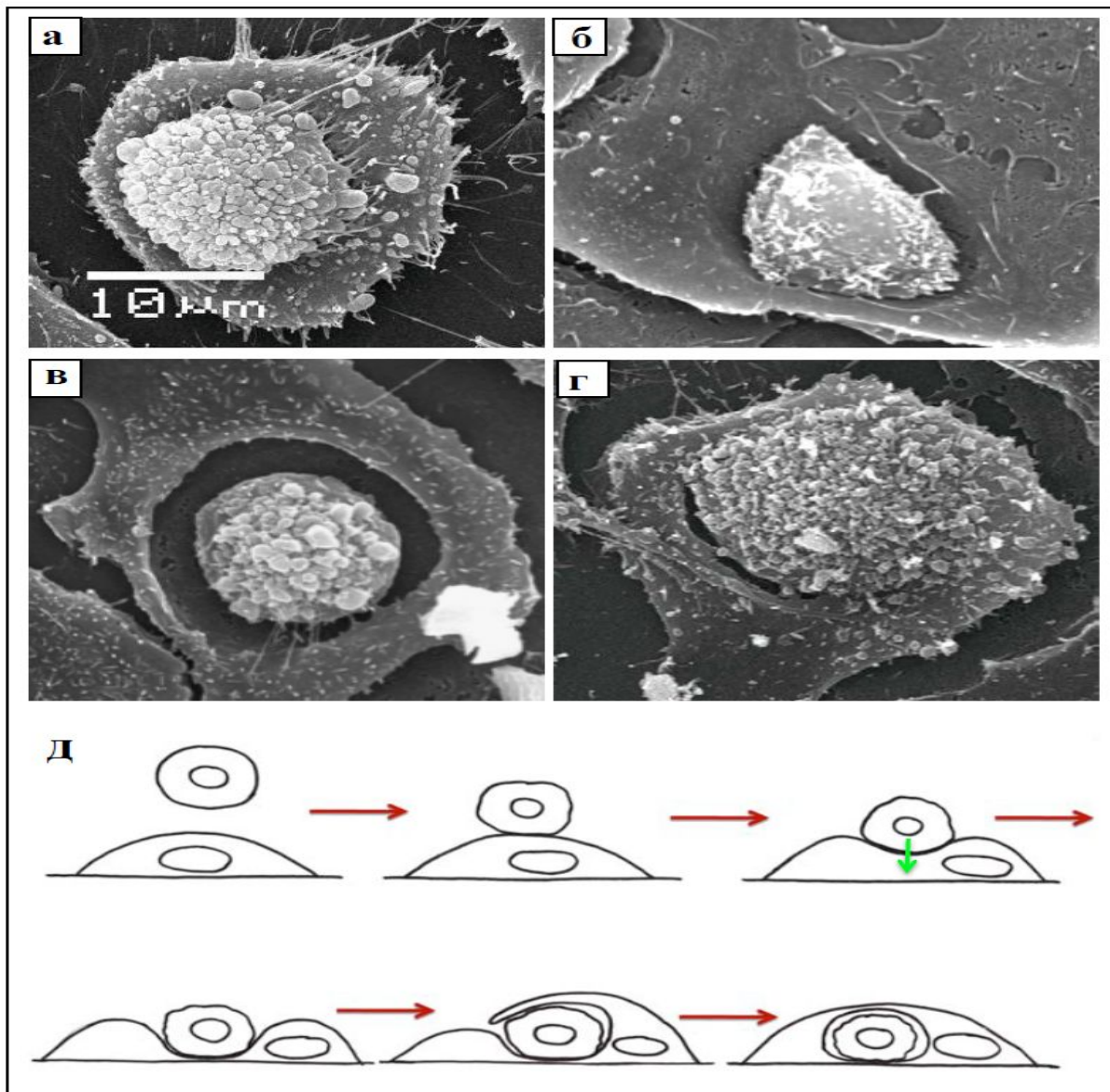
Микрофотографии КК (Overholtzer and Brugge, 2008).

Первоначально для описания таких структур учёные использовали термины **“птичий глаз”** или **“кольцо с печатью”**, которые отражали тот факт, что внедрившаяся клетка находилась внутри крупной неокрашивающейся вакуоли наружной клетки.

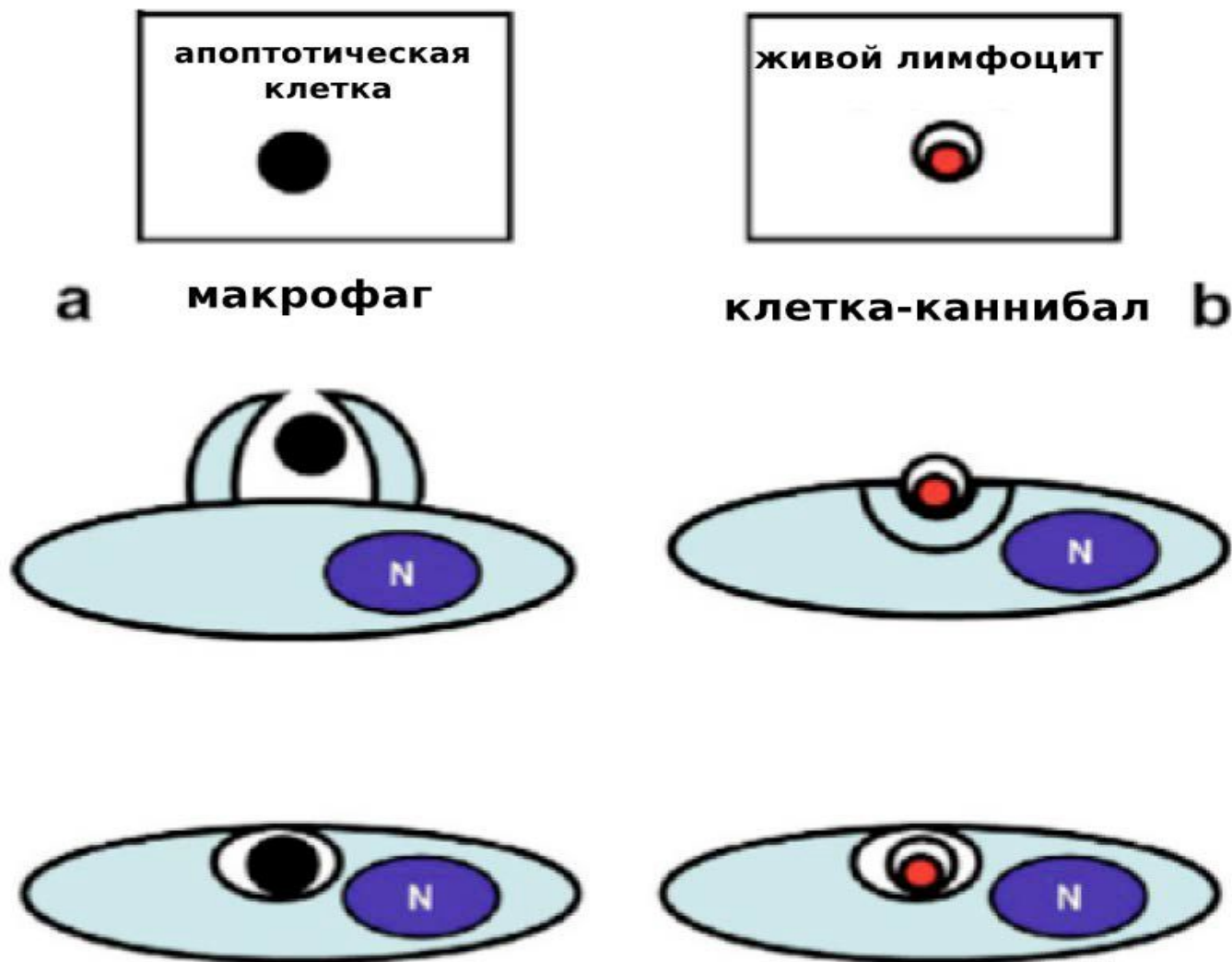
Характеристика клеточного каннибализма

- Участниками КК могут быть и нормальные клетки, такие как нейтрофилы, эритроциты, гепатоциты, мегакариоциты, эпителиальные клетки, астроциты и др.
- Отличие КК от фагоцитоза: 1) **Внедряющиеся клетки живые и могут быть жизнеспособными** до 48 час., на них не нет маркёров фагоцитоза. 2) **Инициатор внедрения** - сама внедряющаяся клетка, в ней происходит активация акто-миозинового комплекса, продавливание плазматической мембраны наружной клетки, локализация **внутри** крупной вакуоли. 4) **Судьба** внедрившихся клеток различна: возможны
 - **лизосомальная деградация,**
 - **митоз,**
 - **выход из каннибалической вакуоли.**
- КК может использоваться в клинике для диагностики заболеваний и прогноза опухолевой прогрессии. КК может быть **маркёром метастатического потенциал** опухоли.

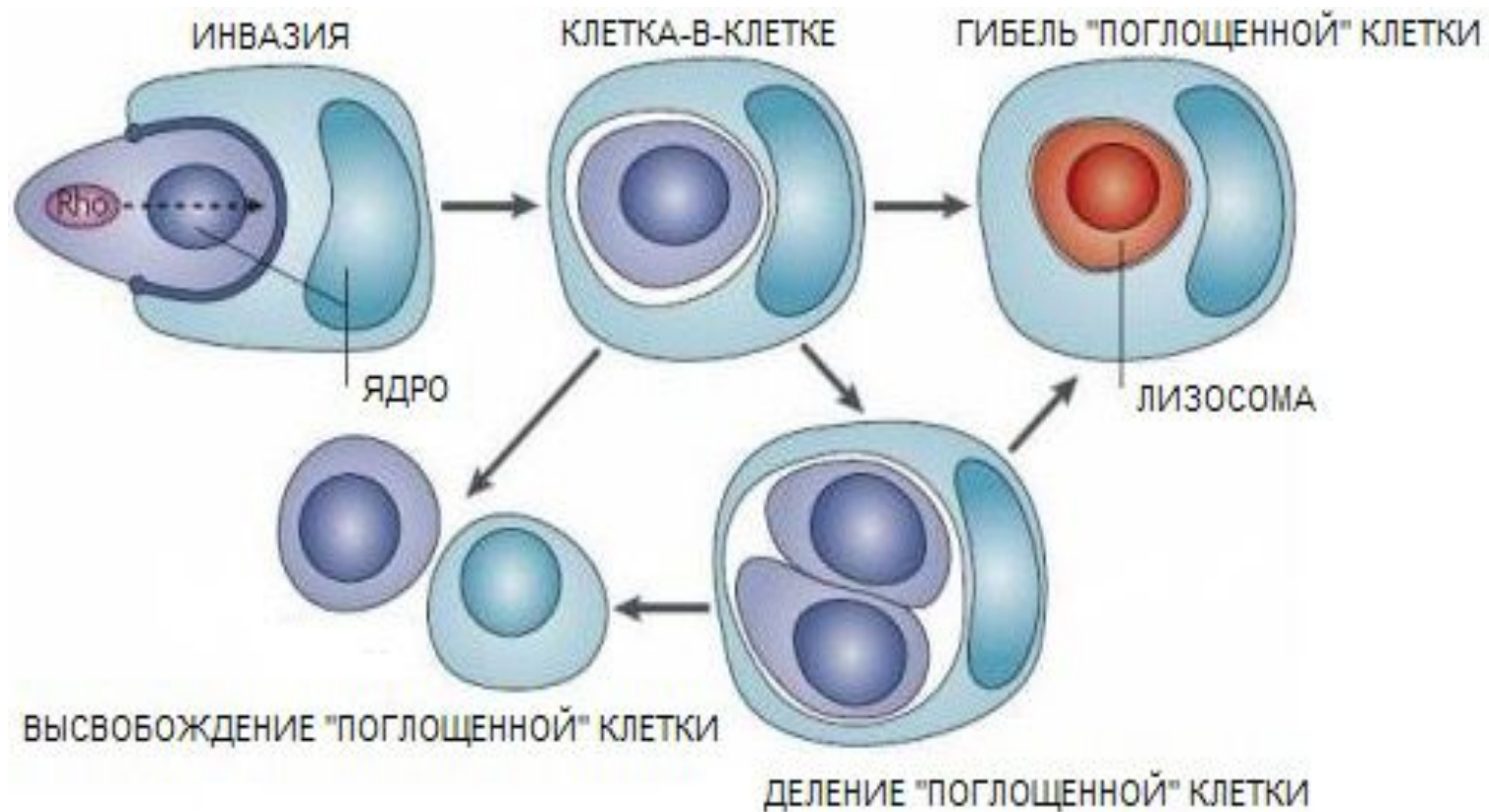
Внедрение клетки в клетку



Различия между фагоцитозом и клеточным каннибализмом.



Судьба внедрившейся клетки при энтозе



Биологическая роль клеточного каннибализма

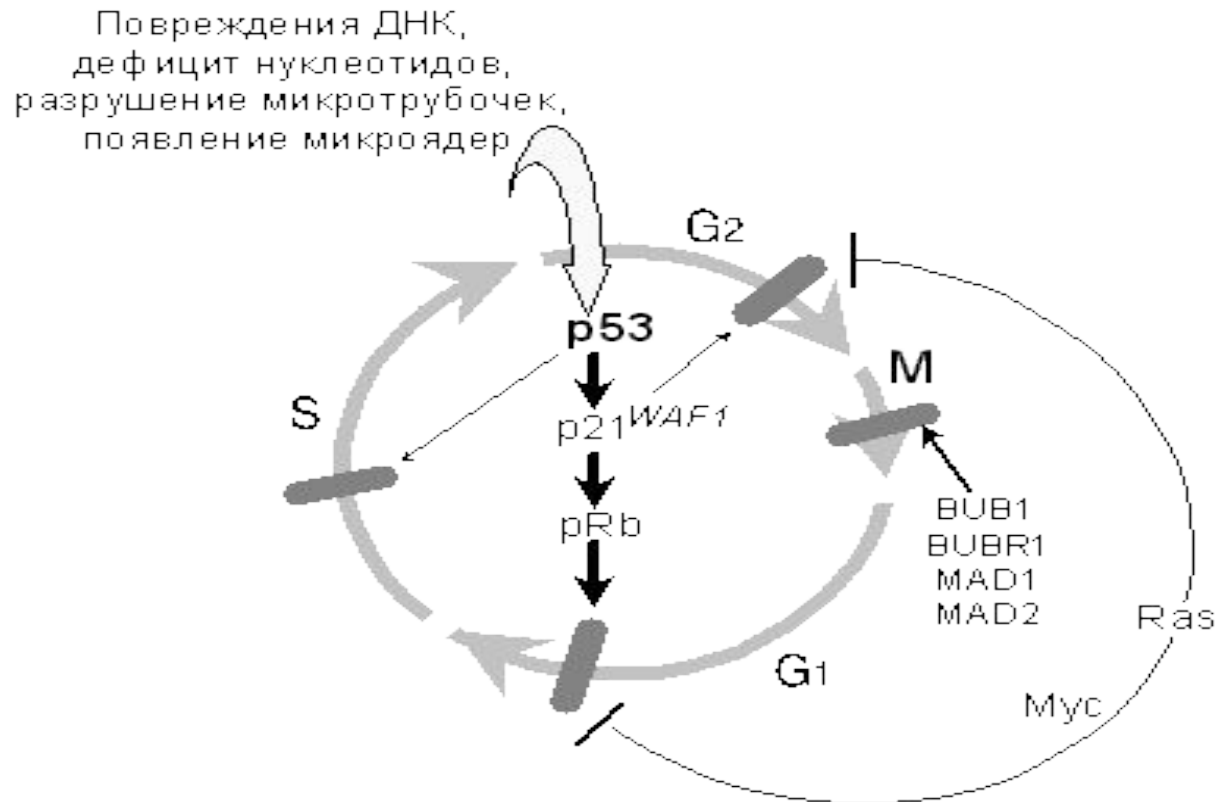
1. **КК - способ выживания злокачественной опухоли** при неблагоприятных условиях микросреды.
2. **Предотвращение запуска иммунного ответа.** КК позволяет опухолевым клеткам уходить от иммунного ответа (поглощение и деградация НК).
3. **Увеличение ploидности клеток.** КК может приводить к анеуплоидии путем нарушения цитокинеза энтозной клетки (признак злокачественного перерождения клетки).
4. **Отбор более агрессивных опухолевых клеток.**
5. **Контроль роста опухоли.** В опухолевой культуре КК способен регулировать численность и размер клеточных колоний, подавлять рост опухоли, а также элиминировать клетки с какими-либо повреждениями.

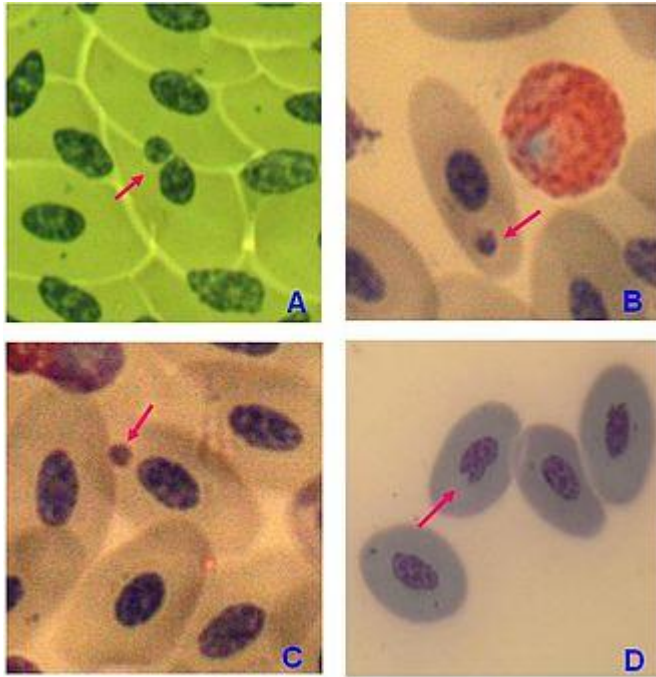
6. Митотическая катастрофа — это гибель клетки в результате грубых нарушений митоза, таких как отставание хромосом в мета- и анафазе, К-митозы и др.

1. Главный морфологический признак — **образование микроядер**, в которых нет конденсации хроматина (отличие от апоптоза). Микроядра образуются путем выброса хроматина из интерфазного ядра.
2. Играет большую роль при действии радиации, применении противоопухолевых препаратов.
3. **Ингибирование прохождения 2-ой сверочной точки клеточного цикла.** Нарушается организация веретена деления и выстраивание хромосом в виде митотической пластинки.

Сверочные точки клеточного цикла:

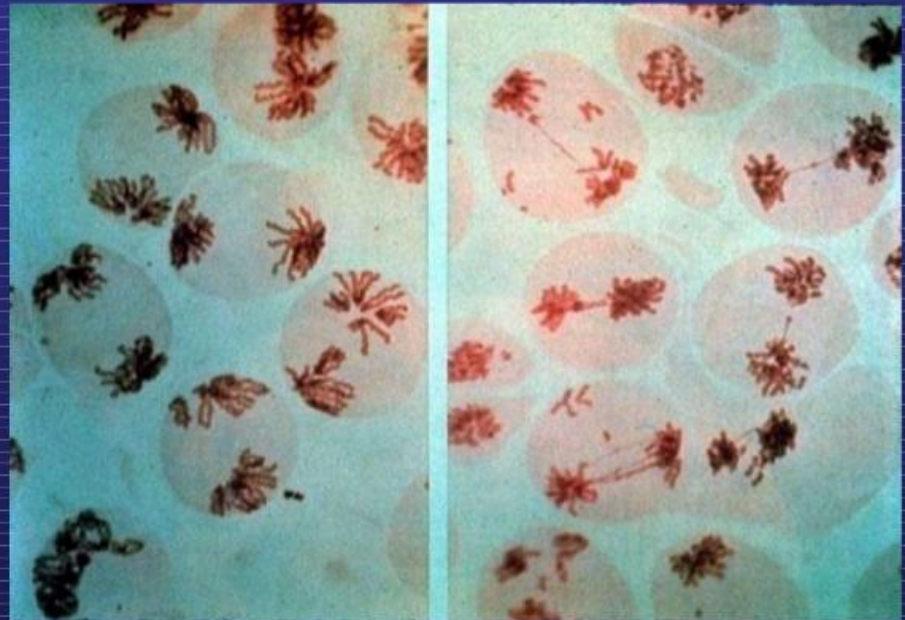
- 1. Сверочная точка в G1; 2. Сверочная точка в S-фазе; 3. Сверочная точка в G2; 4. Сверочная точка сборки веретена деления**





Микроядра в эритроцитах периферической крови пингвина [Pygoscelis papua](#).

Митотическая или репродуктивная форма гибели клеток



Норма

После облучения

7. Пироптоз – открыт в 2001 году Cookson и Brennan

Пироптоз — это запрограммированная гибель клетки, в основе которой лежит образование **инфламماسомы** и избыточная продукция **провоспалительного цитокина IL-1**. Пироптоз сопровождает инфекционные процессы, вызванные бактериальными возбудителями. Характерен для моноцитов и макрофагов.

Отличительные признаки пироптоза:

1. Индуцируется каспазой -1
2. Протекает с участием лизосом
3. Наблюдается воспаление

Инфламмасома - сложный белковый комплекс или "платформа", на которой происходит процессинг (созревание) про-IL-1 β с помощью каспазы-1 и последующая его секреция, что способствует развитию **воспаления**

Индукторы образования инфламмасы:

- липополисахариды бактериальной стенки
- **мочевая кислота**
- **АФК**
- **церамид**
- **амилоид**

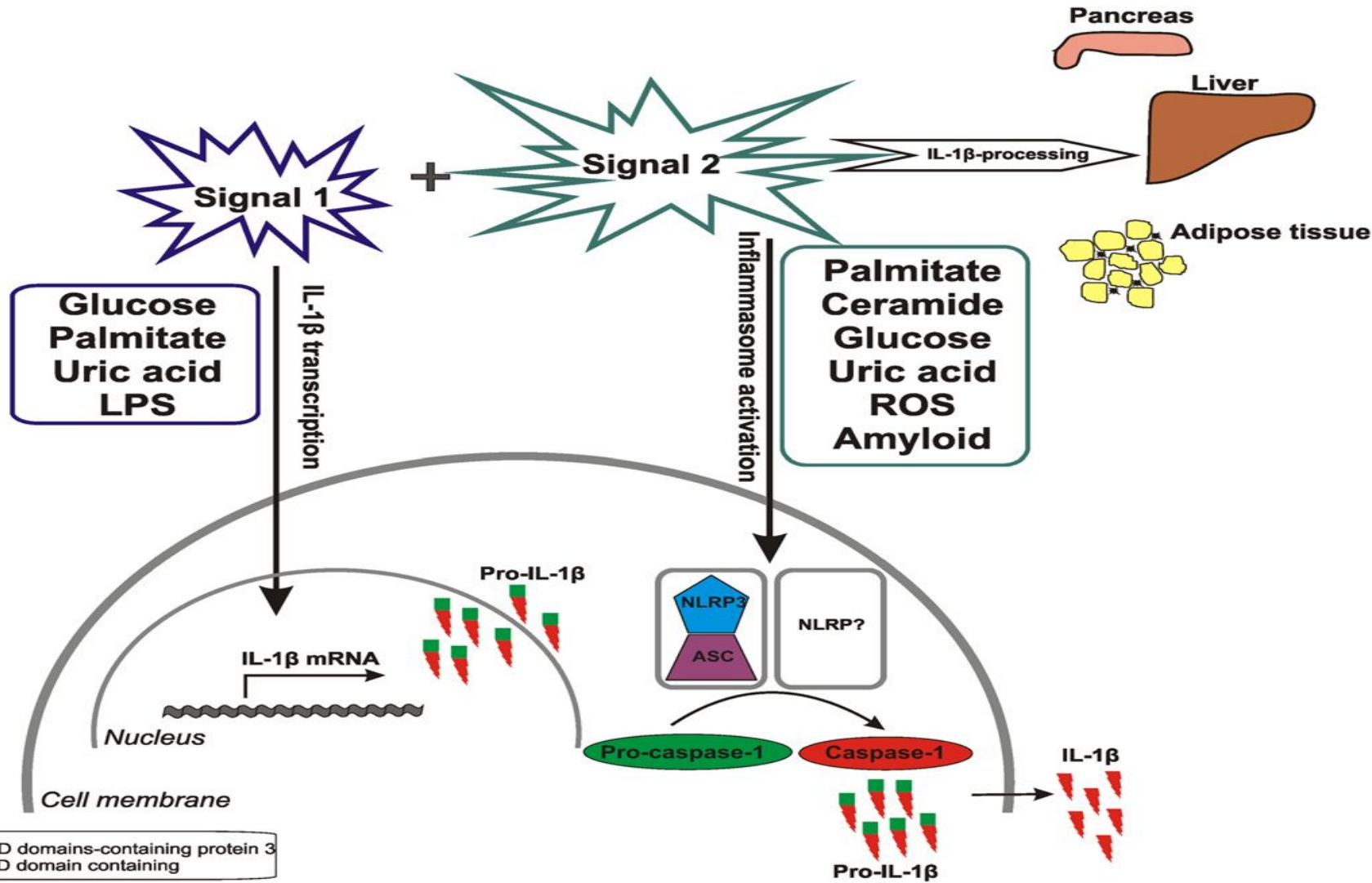
Инфламмасома

- 1) Инфламмасома – цитоплазматические белковые комплексы, распознающие PAMP и DAMP, способствующие активации каспазы-1 и процессингу ИЛ-1 β
- 2) В состав инфламмасы входит 22 цитоплазматических NOD-подобных белка, в том числе 14 NLRP белков и др. Различают несколько типов инфламмасы: NLRP1, NLRP3, NLRP4 и др.
- 3) **Мембранные (TLR) и цитоплазматические (NLR) патоген-распознающие рецепторы** взаимодействуют с PAMP и DAMP и активируют 2 типа сигнальных путей:
 - а) 1-ый путь - активация фактора транскрипции **NF- κ B**, транслокация в ядро и экспрессия генов ЦК сем. ИЛ-1 и др.
 - б) 2-ой путь – **сборка инфламмасы** путем активация внутриклеточных белков, входящих в ее состав, активация каспазы-1 процессинг ИЛ-1 β

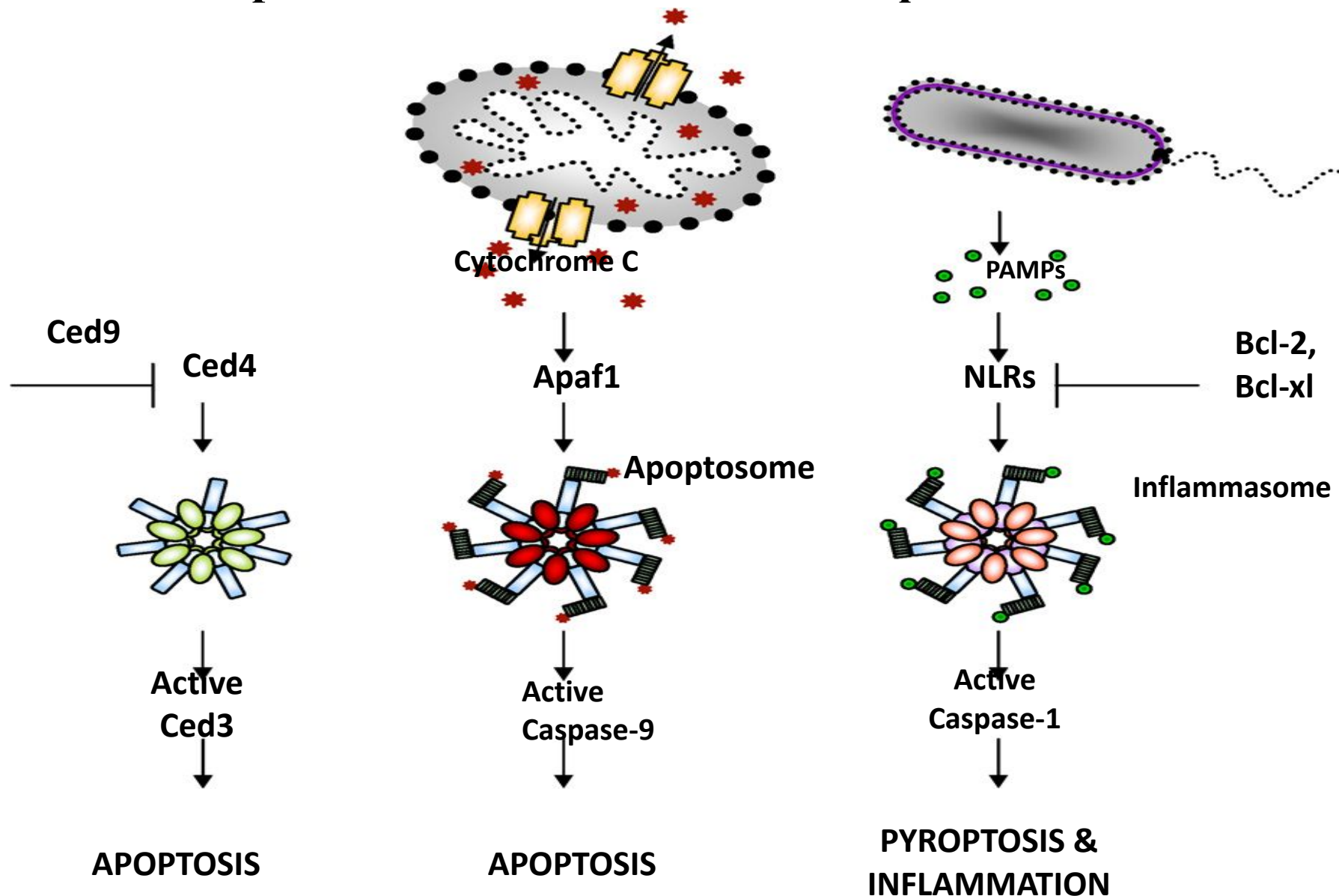
PAMP – патоген ассоциированные молекулярные паттерны

DAMP – ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны

Активация инфламماسомы (из Stienstra et al., 2012)



Образование апоптосомы и инфламасомы



Строение инфламмасомы

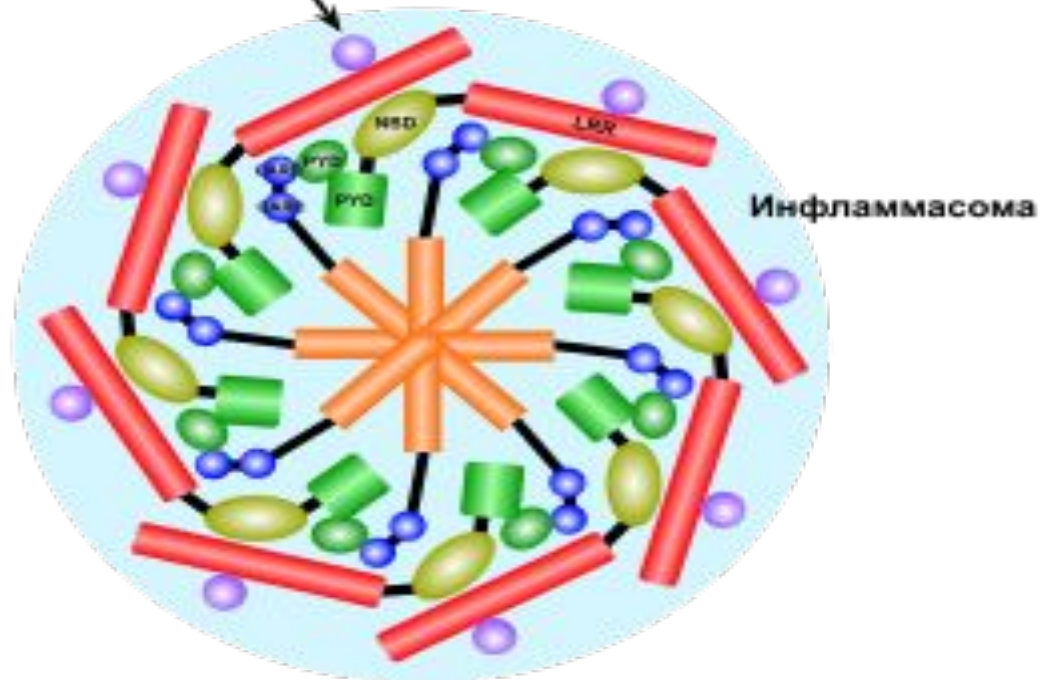
Субъединица
инфламмасомы NLRP3

LRR NBD PYD NLRP3

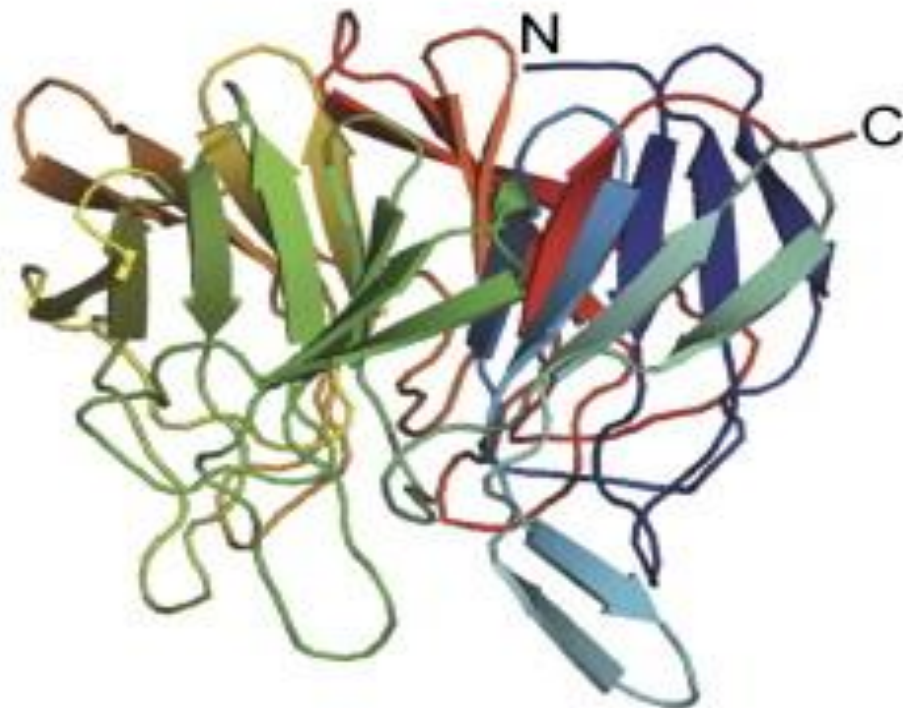
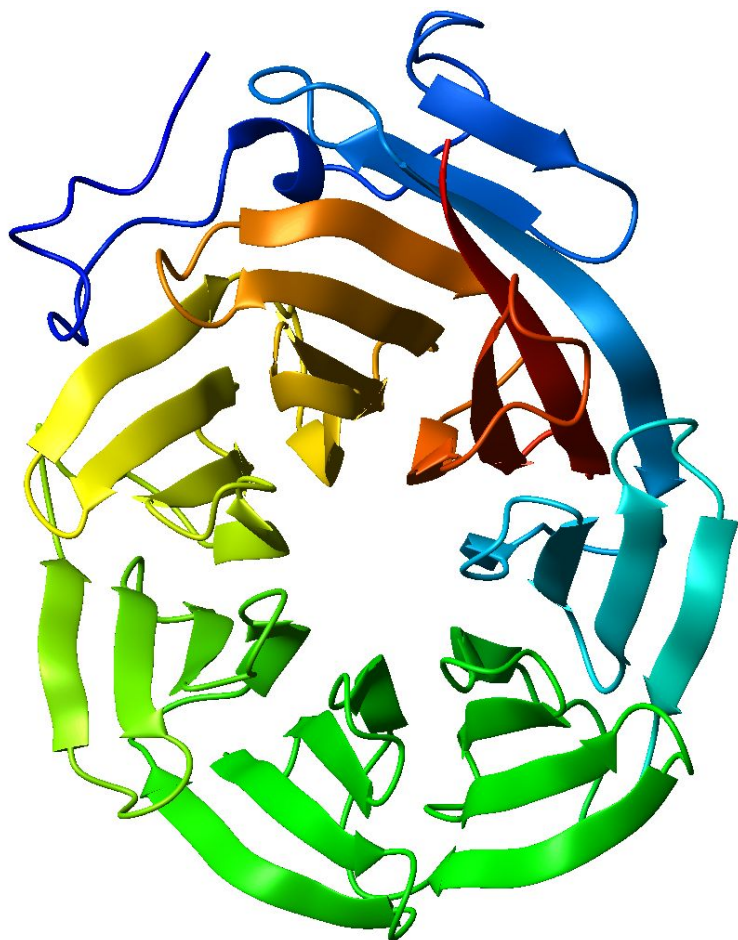
PYD CARD ASC

CARD Соединяющая субъединица Прокальцитонин-1

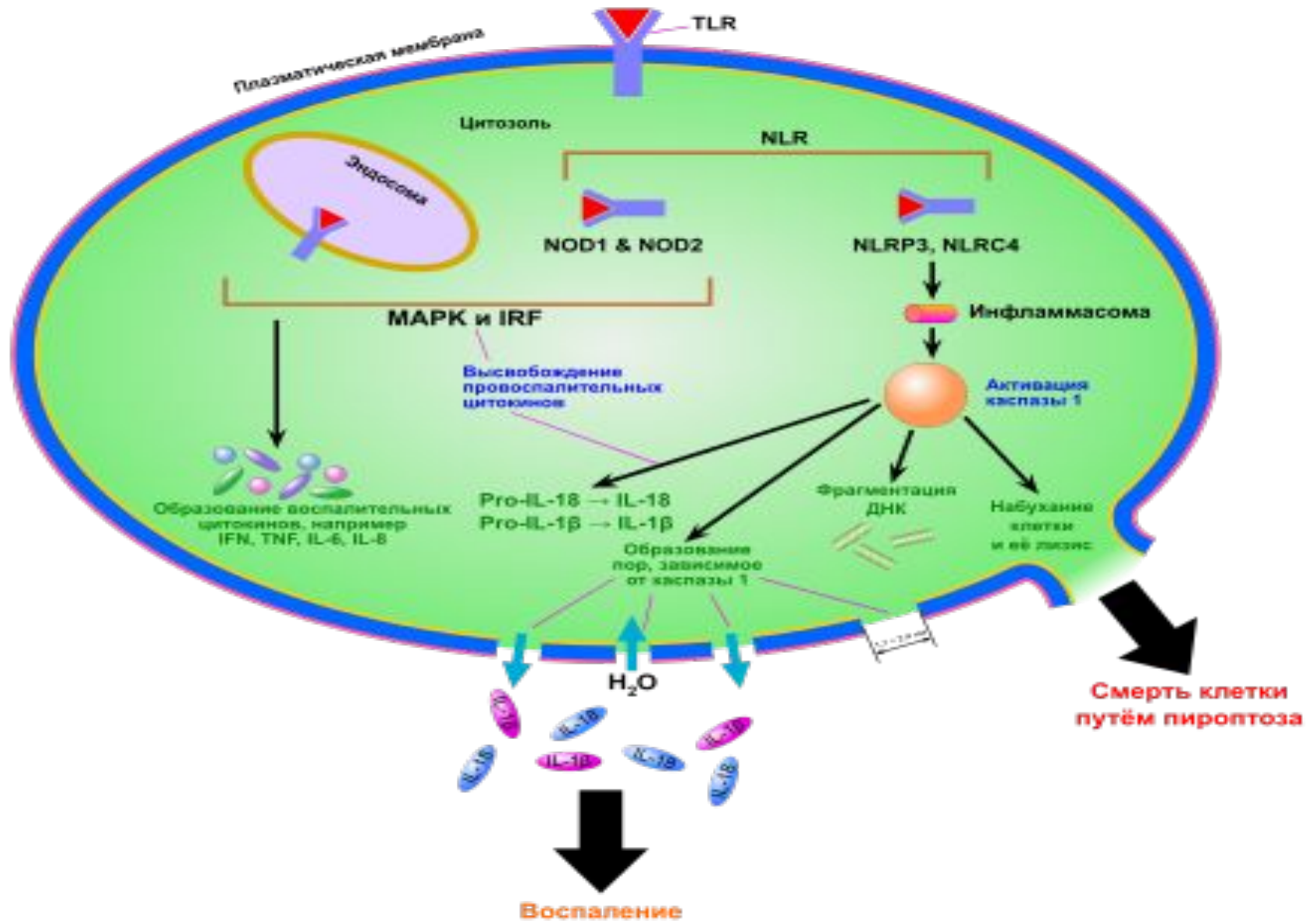
Лиганд



Бета-пропеллер: вид сверху и сбоку



Механизмы пироптоза



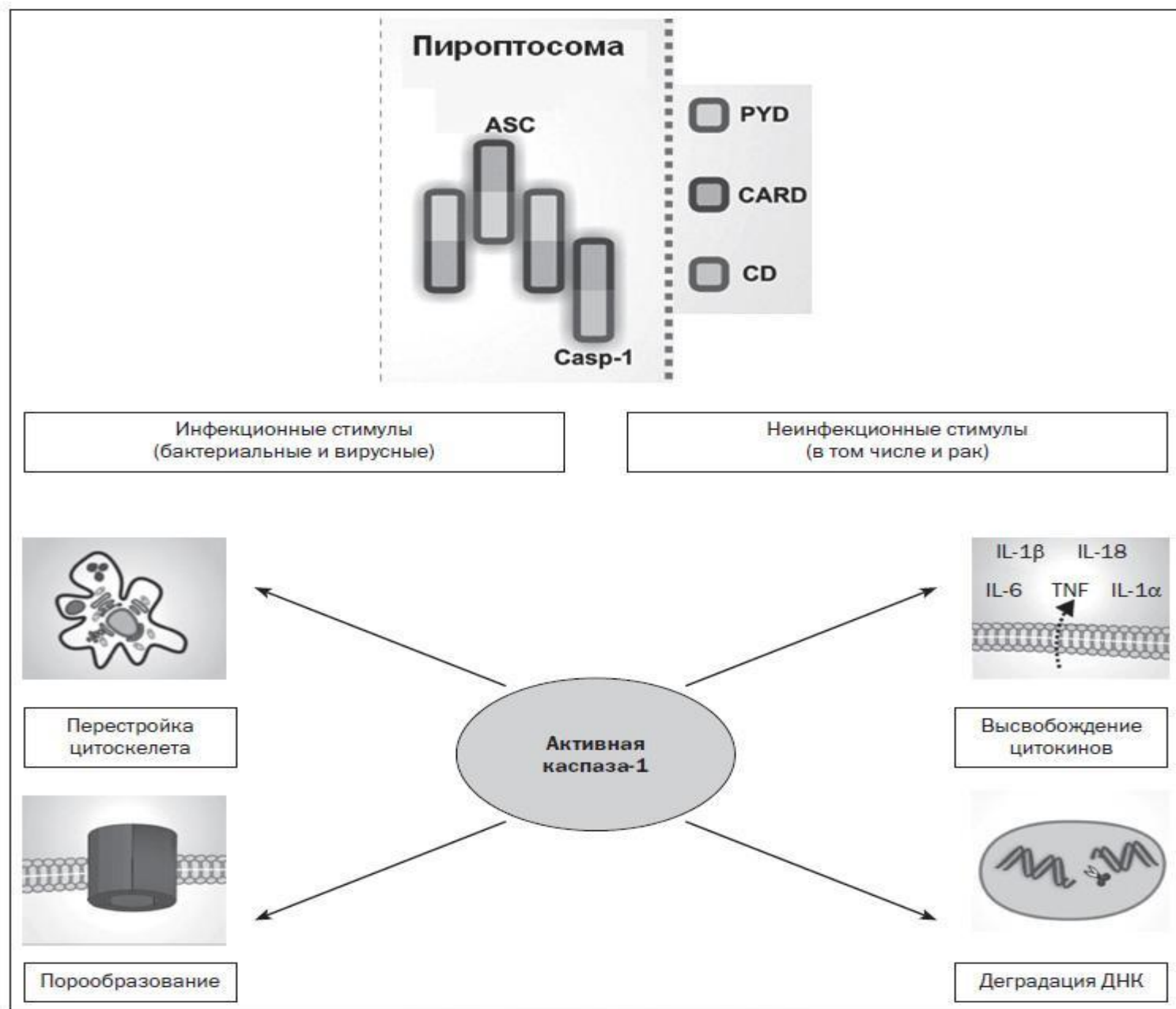
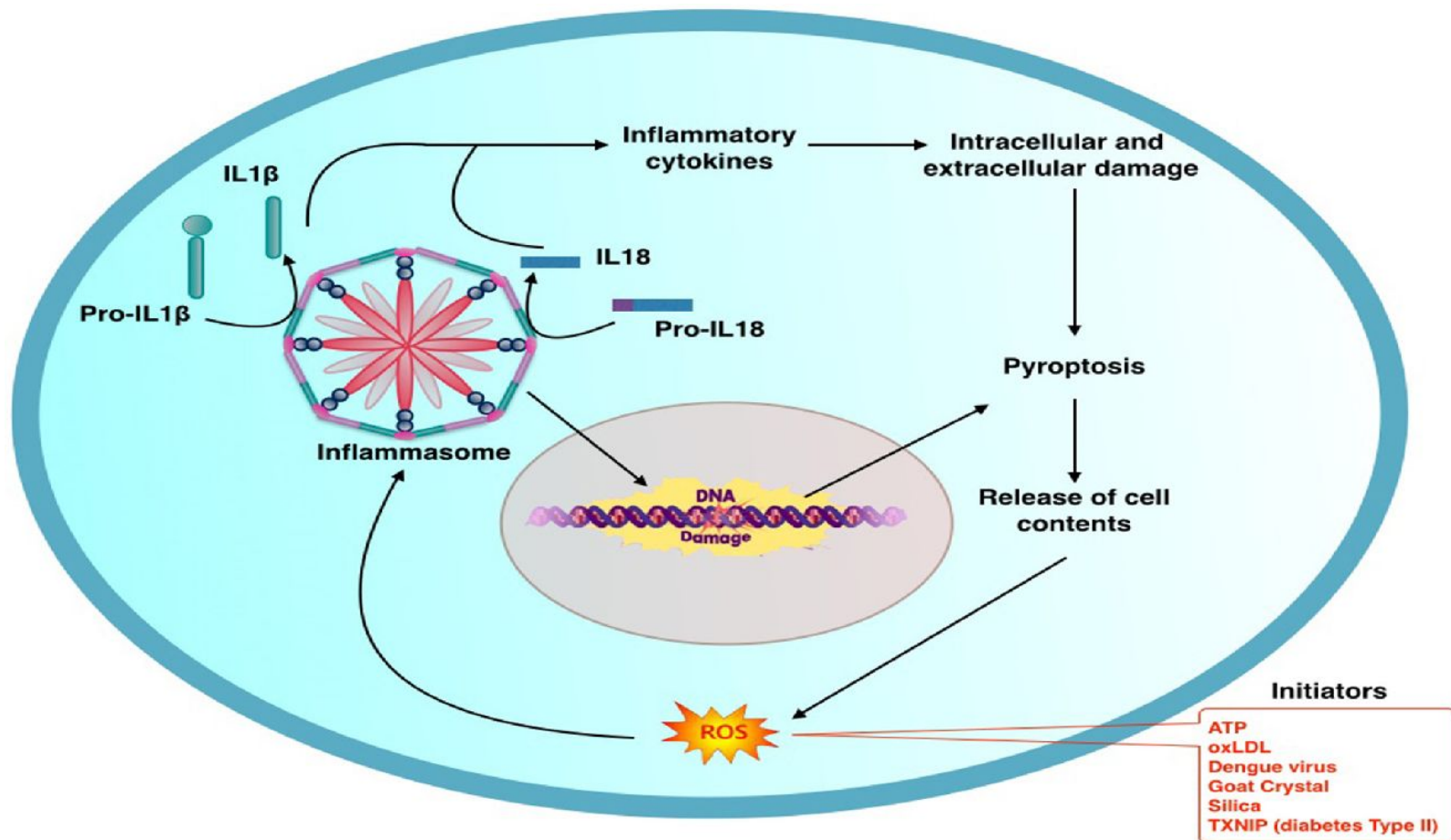


Рисунок 11. Процесс пироптоза [47]

Роль АФК в активации инфламмасомы (из Harijith et al., 2014).



8. Корнификация

Корнификация – физиологическая гибель клеток внешнего слоя эпидермиса

Корнификация - вариант клеточной смерти.

Признаки:

- 1) ограничена кератиноцитами;
- 2) функционально связана с образованием рогового эпителия;
- 3) необходима для построения **эпидермального барьера**, позволяющего изолировать организм от окружающей среды;
- 4) включает **активацию трансглутаминаз**, которые образуют перекрестные сшивки между специфическими белками.

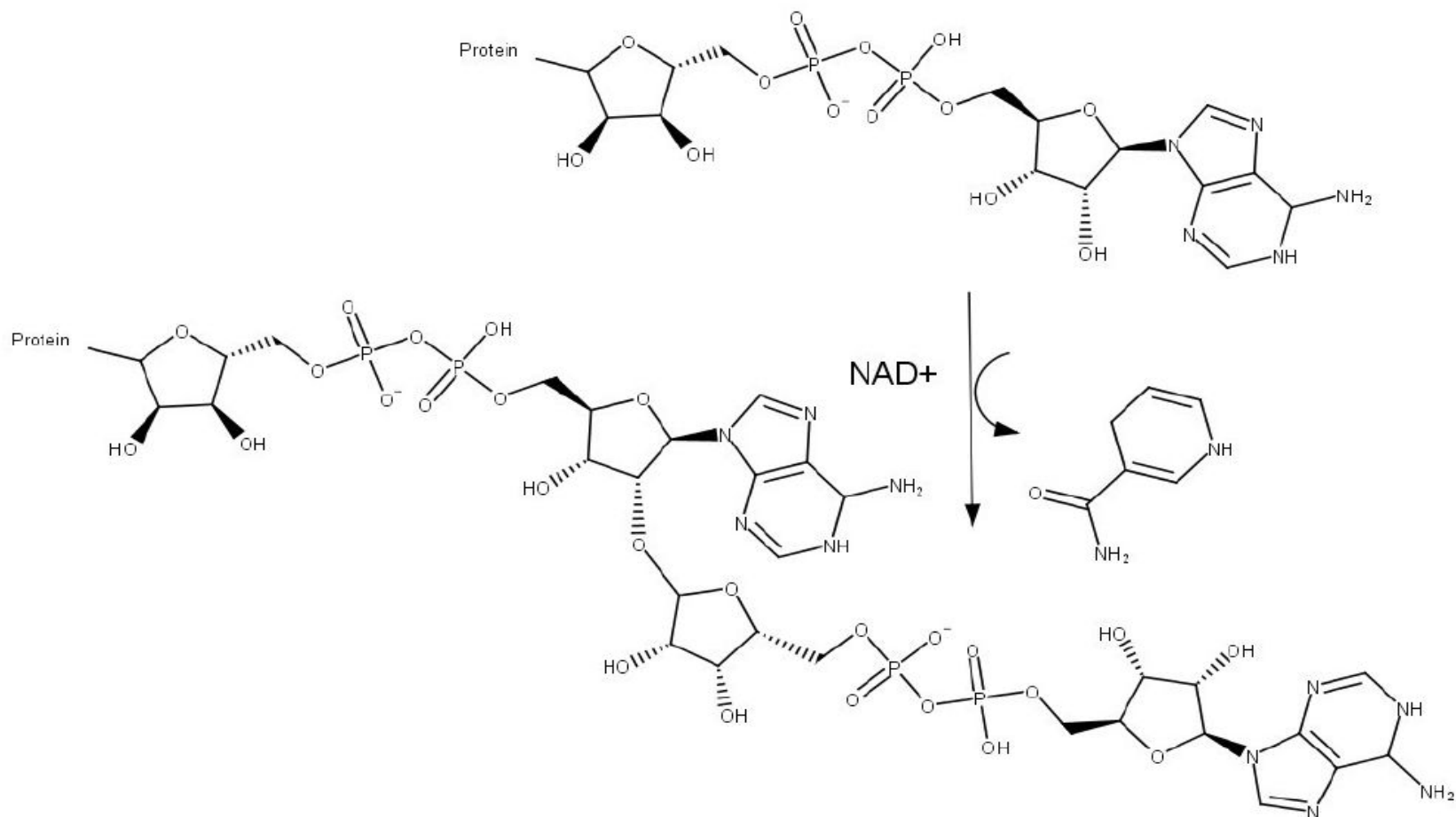
9. Паранотоз

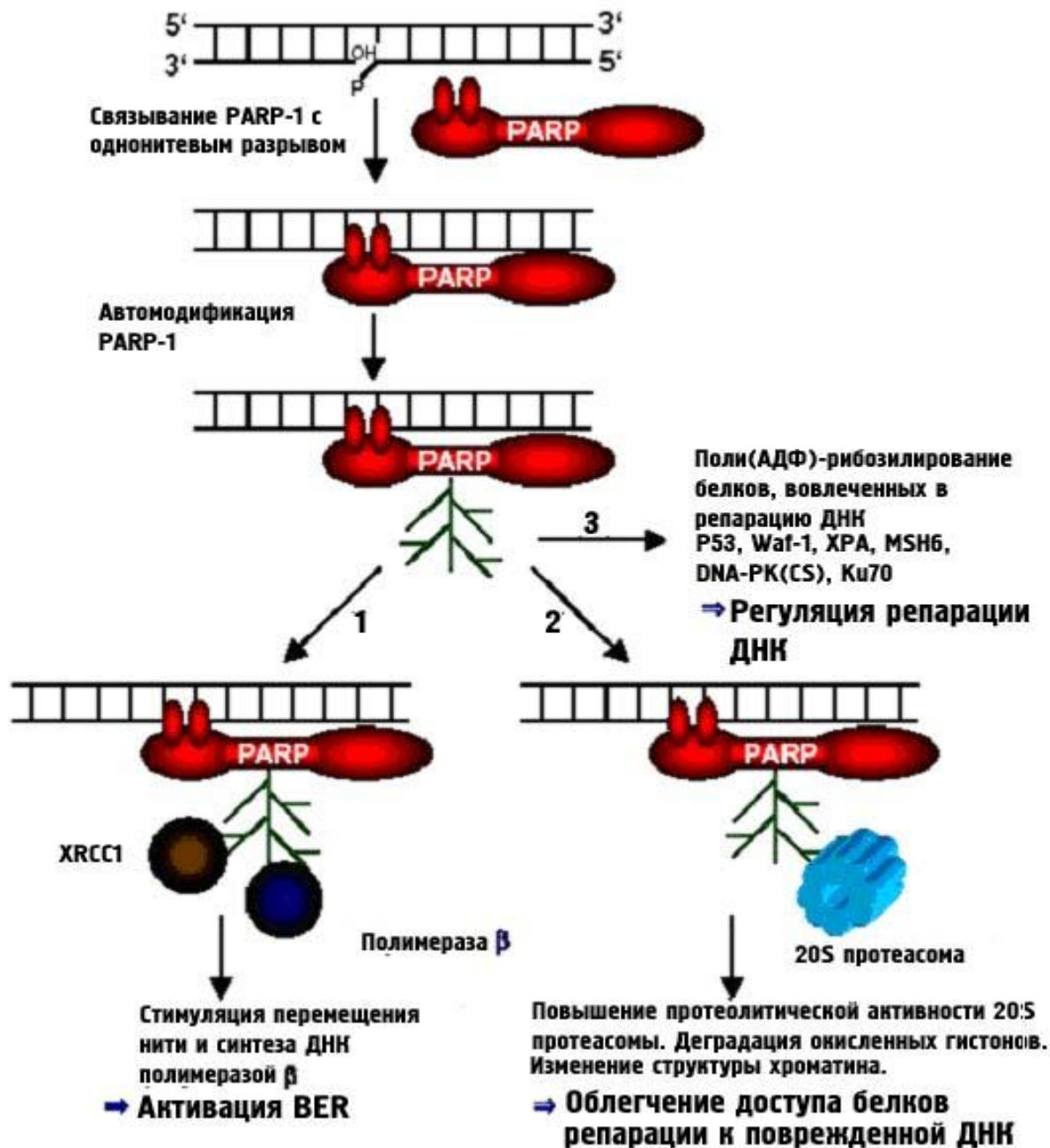
- **Паранотоз** – вариант клеточной смерти, зависящей от активации poly(ADP-ribose)полимеразы (PARPs).
- При повреждении ДНК происходит сверхактивация PARP, дефицит NAD⁺ и АТР, аккумуляция поли-АДФ-рибозы (PAR), токсичной для митохондрий, → исчезновение митохондриального потенциала и освобождения AIF.
- AIF – апоптоз-индуцирующий фактор, который приводит к гибели клетки путем транслокации в ядро и участия в деградации ДНК.

Поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP)

Что такое PARP?

Семейство ферментов, присоединяющих полиаденилатные цепи к белкам





Структурно-функциональная организация PARP1.

В структуре PARP1 выделяют три основных функциональных домена: **N-концевой ДНК-связывающий**, **внутренний домен автомодификации** и **С-концевой каталитический**, а также дополнительные функциональные области

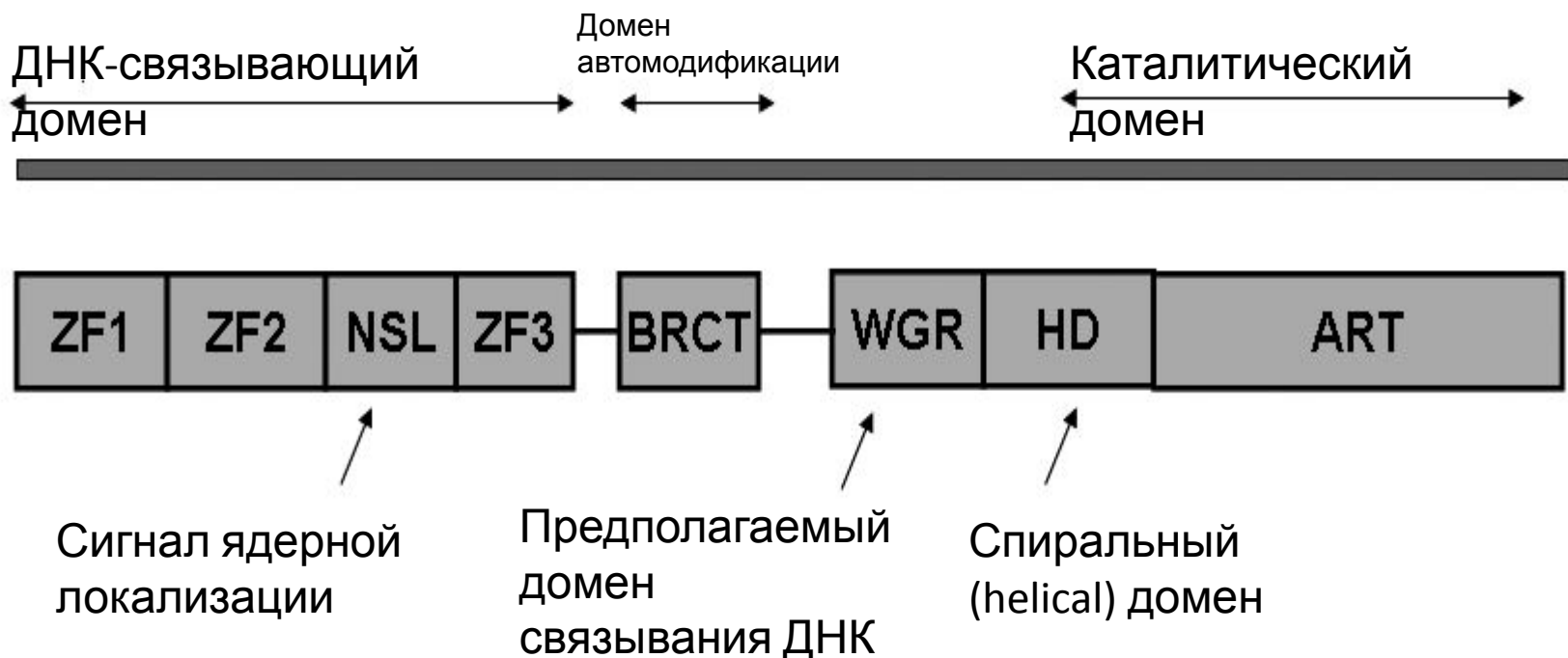
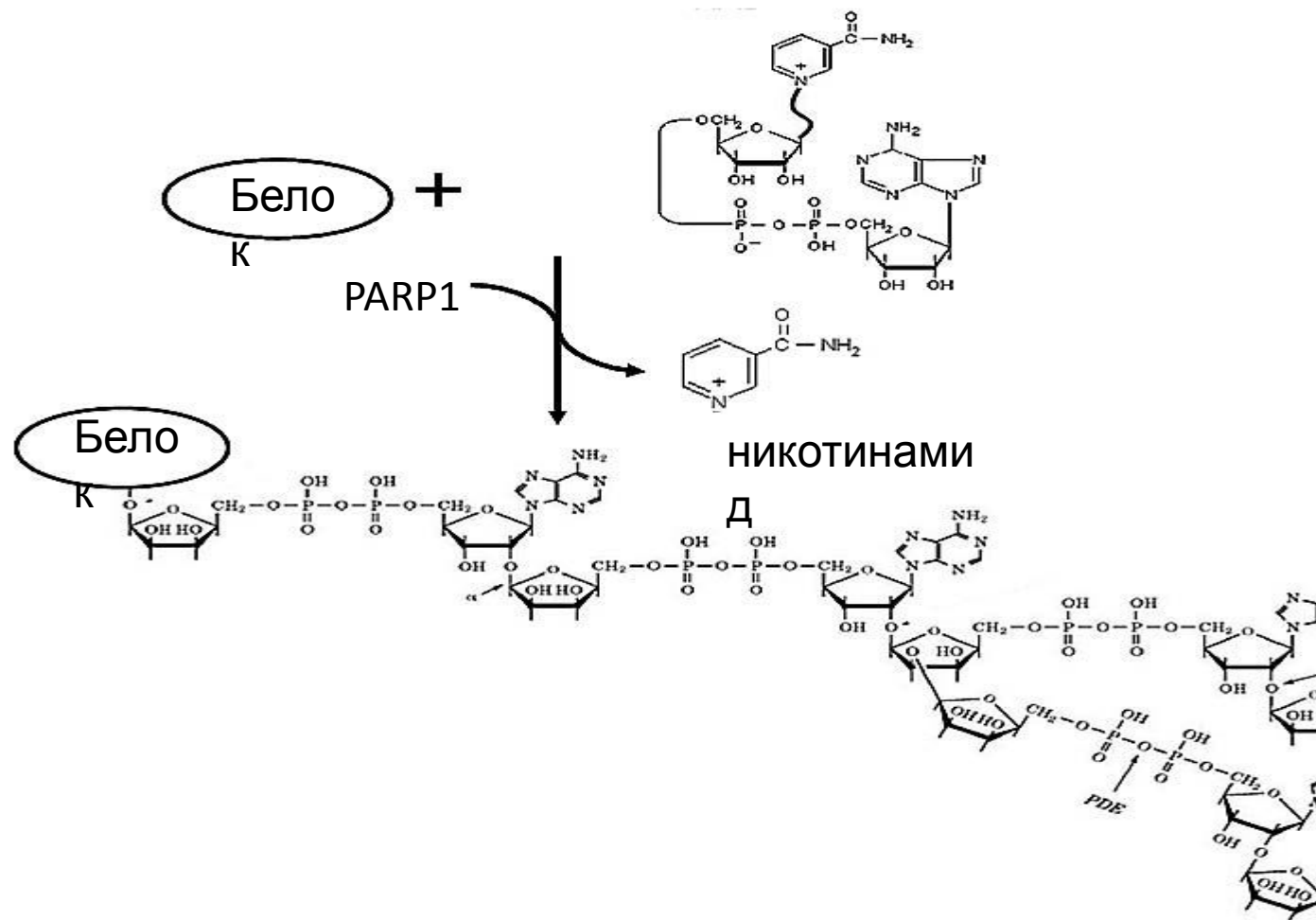
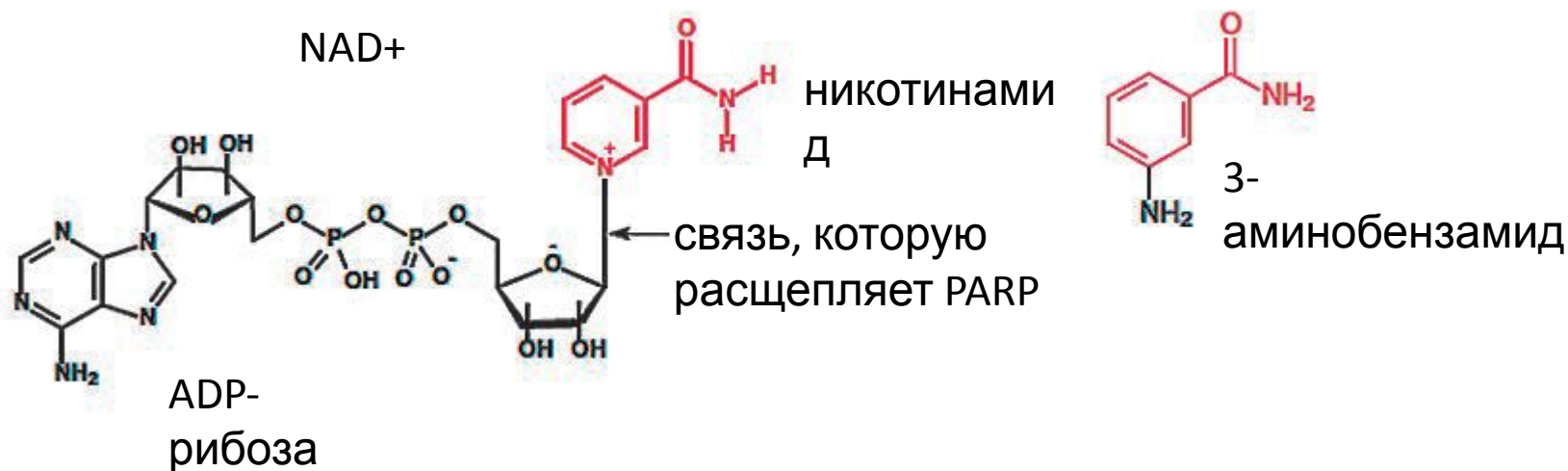


Схема реакции поли(ADP)-рибозилирования белков



Ингибитор PARP1 первого поколения – 3-аминобензамид



1.Поли(ADP-рибозо)полимераза 1 (PARP1), распространенный ядерный белок (1–2 млн молекул на клетку), выполняющий функцию «сенсора» разрывов ДНК, - одна из перспективных молекулярных мишеней для поиска противоопухолевых средств.

2.Экспрессия PARP1 повышена при меланоме, раке легкого, молочной железы и других опухолевых заболеваниях. При этом повышенный уровень экспрессии считается прогностическим признаком, связанным с худшим прогнозом выживаемости.

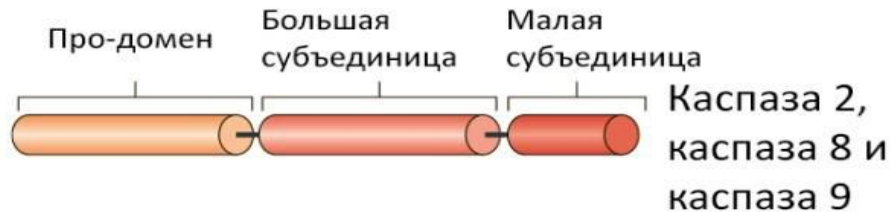
3.Высокая экспрессия PARP1 и устойчивость опухолей к терапии взаимосвязаны.

4.Ингибиторы PARP1 рассматриваются в качестве перспективных противоопухолевых агентов, действующих как химио- и радиосенсибилизаторы при традиционной терапии злокачественных образований.

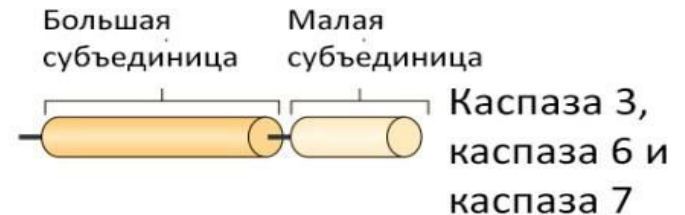
5. Ингибиторы PARP1 могут использоваться как самостоятельные лекарственные средства, эффективные при опухолях, в которых нарушены определенные пути репарации ДНК.

Классификация, строение и процесс активации каспаз двух типов: инициаторной и эффекторной.

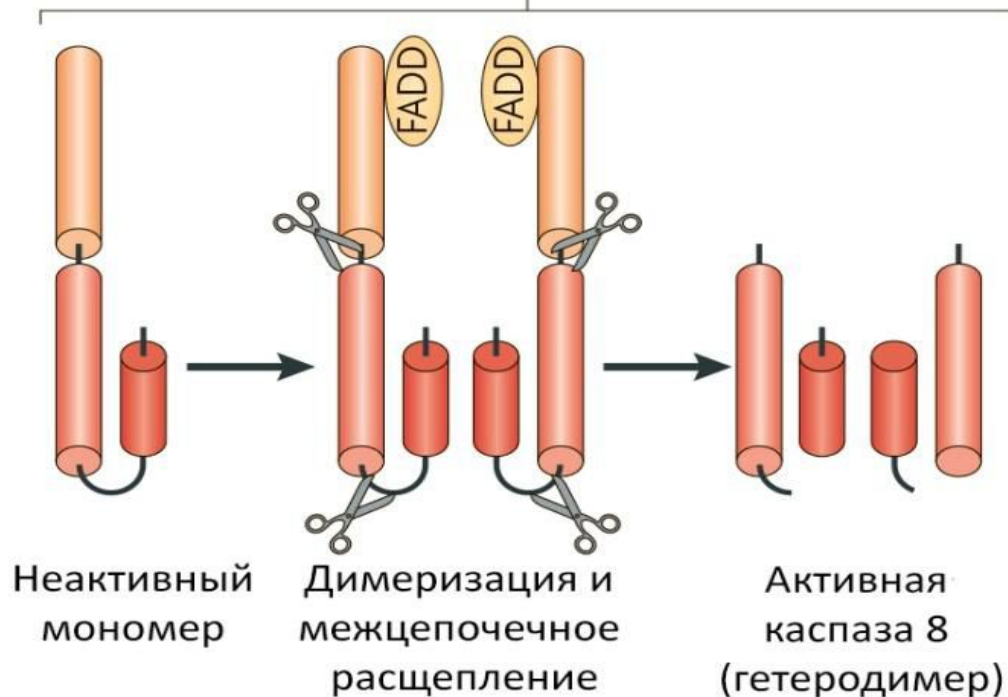
А Инициаторные каспазы



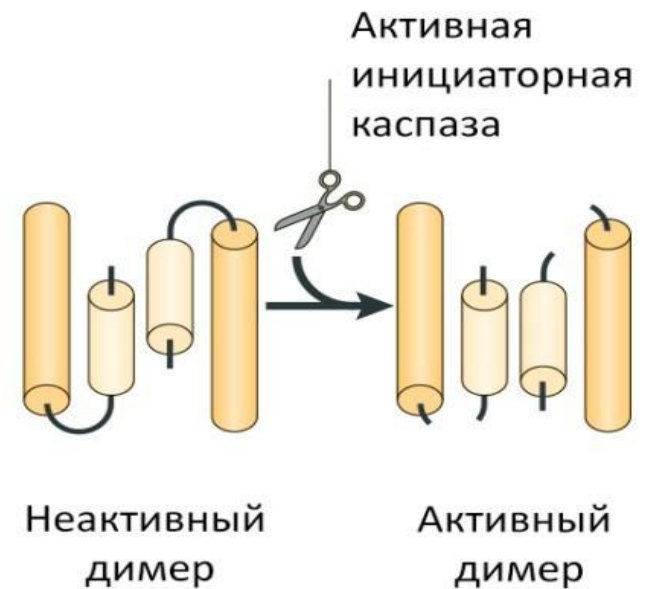
Эффекторные каспазы



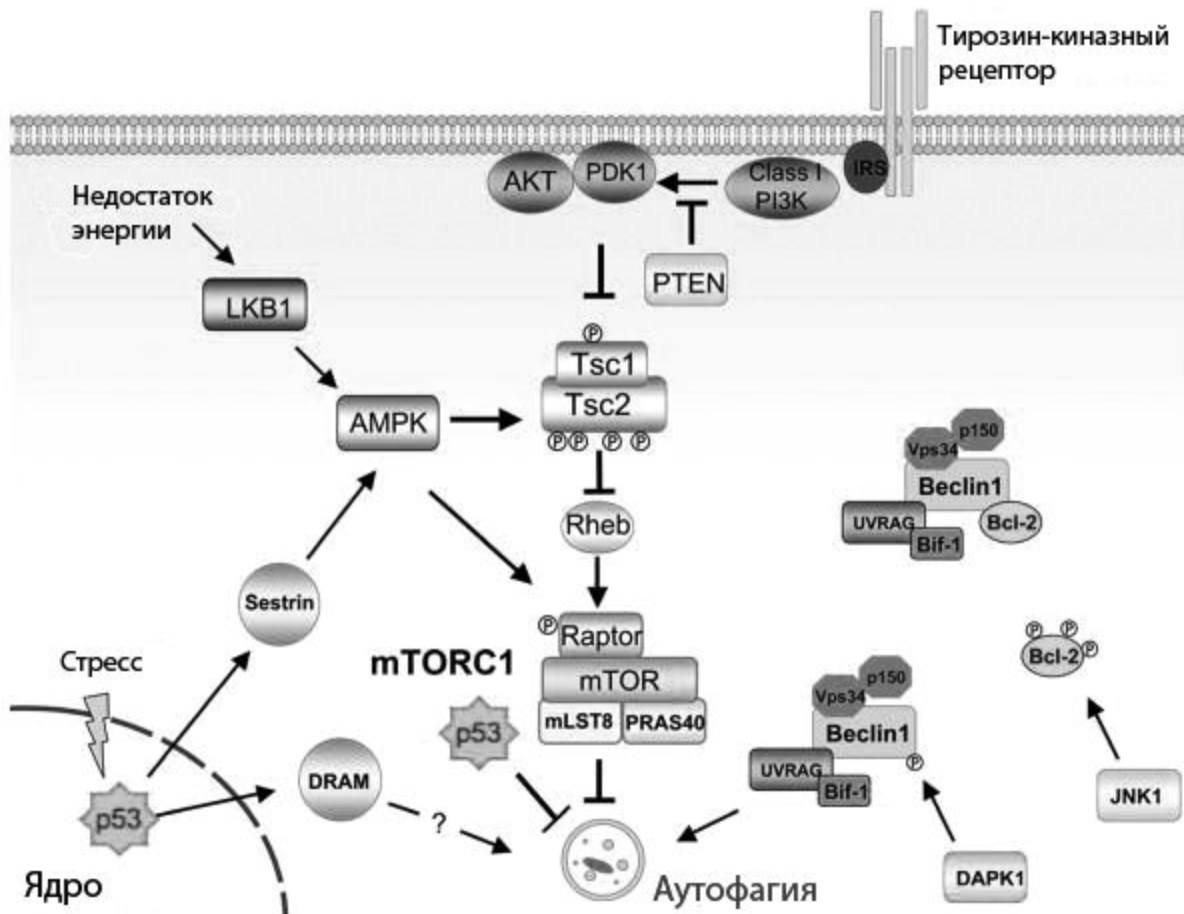
Б Активация каспазы 8



Активация эффекторной каспазы



Регуляция аутофагии



Роль аутофагии в канцерогенезе

