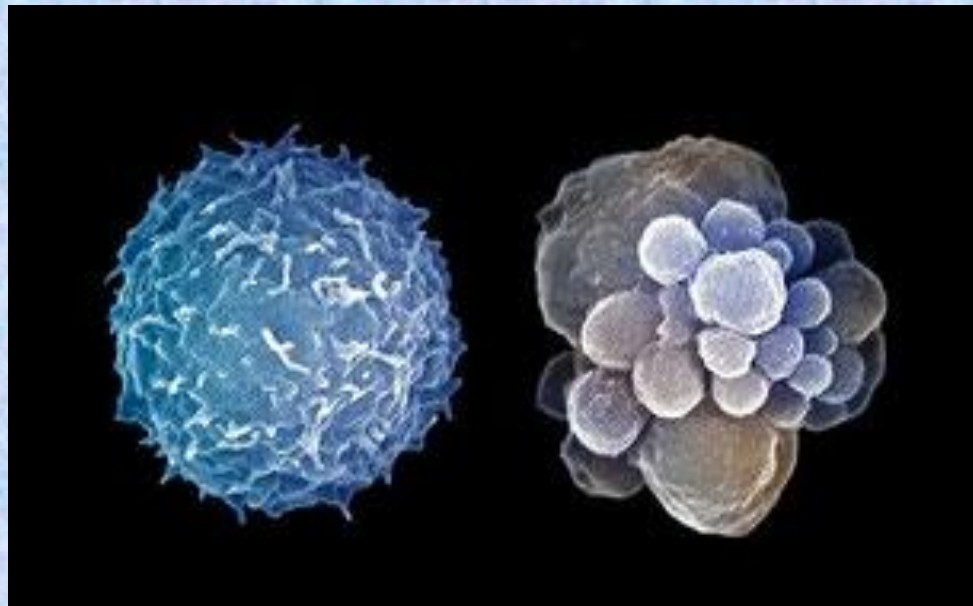


Типы клеточной гибели



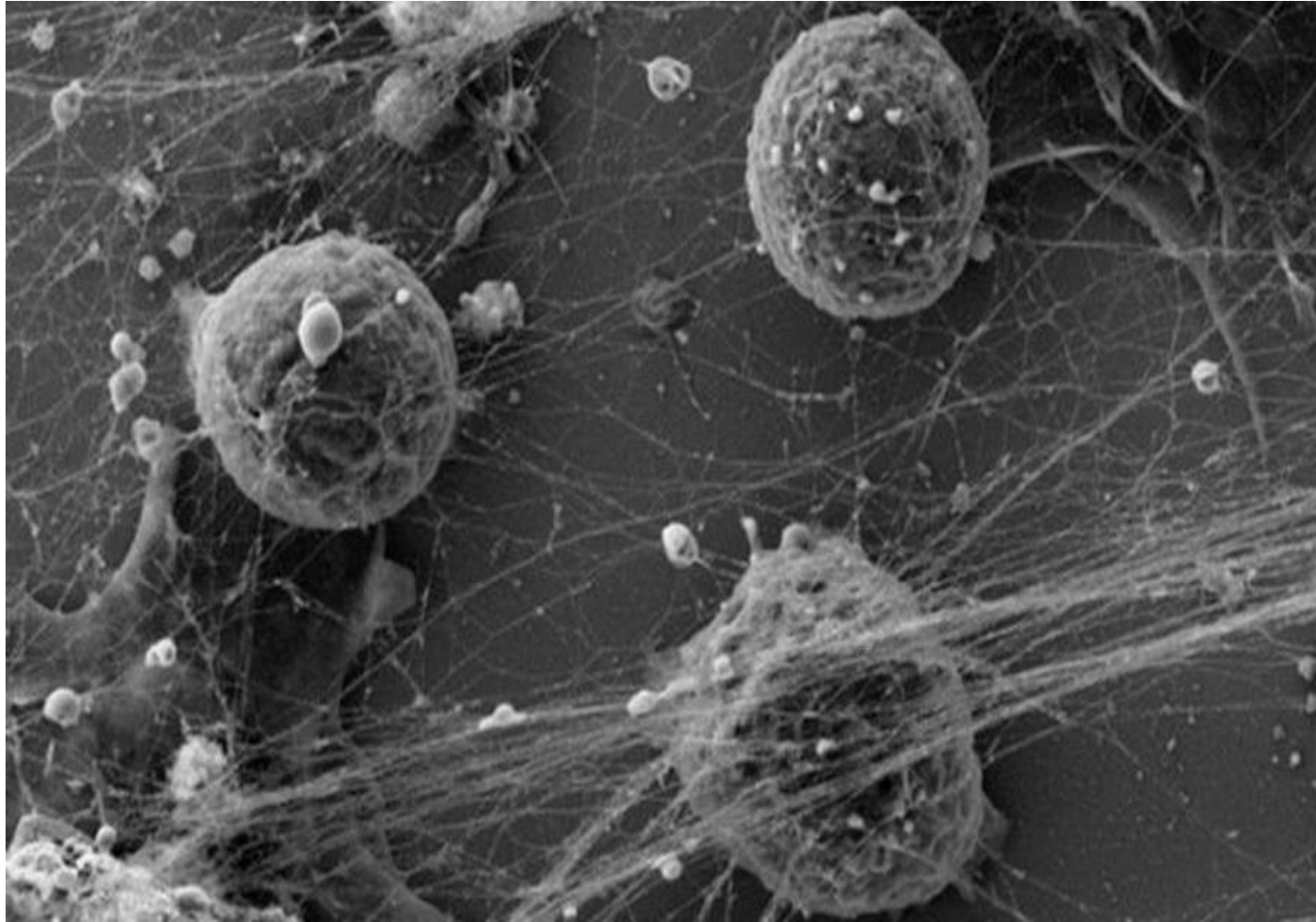
Механизмы

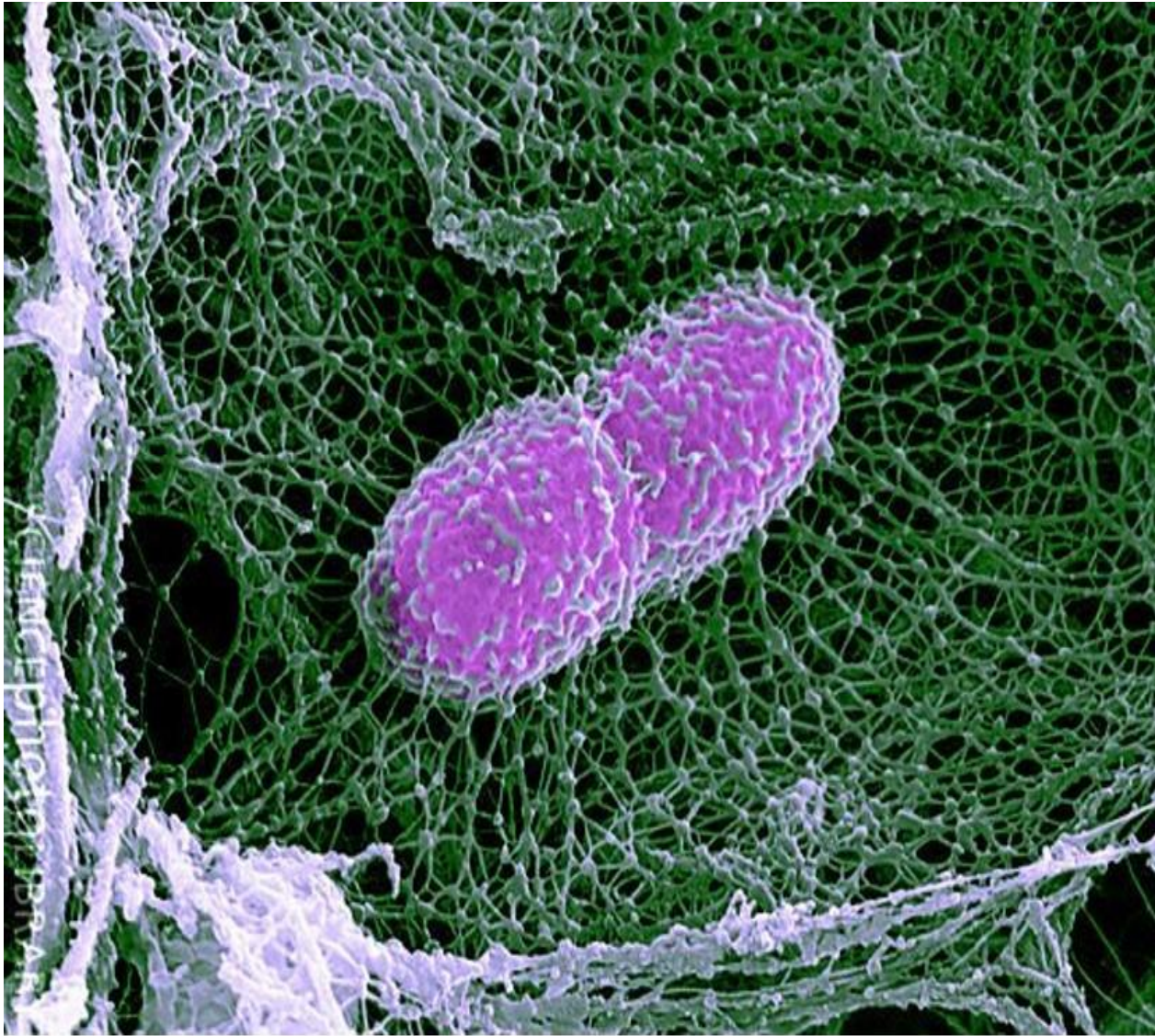
Виды клеточной гибели

- 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

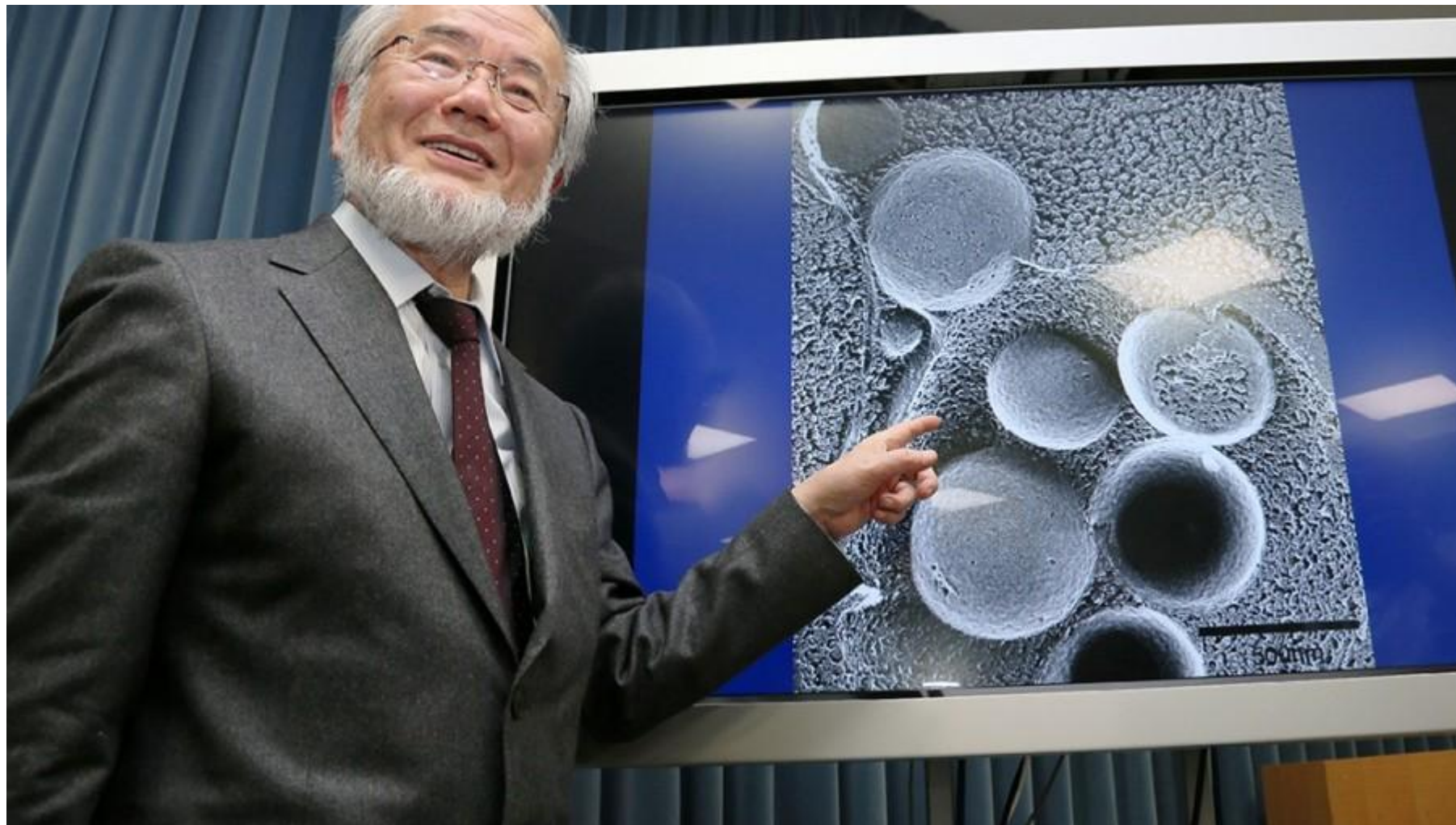
4. Аутофагия

- **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.**

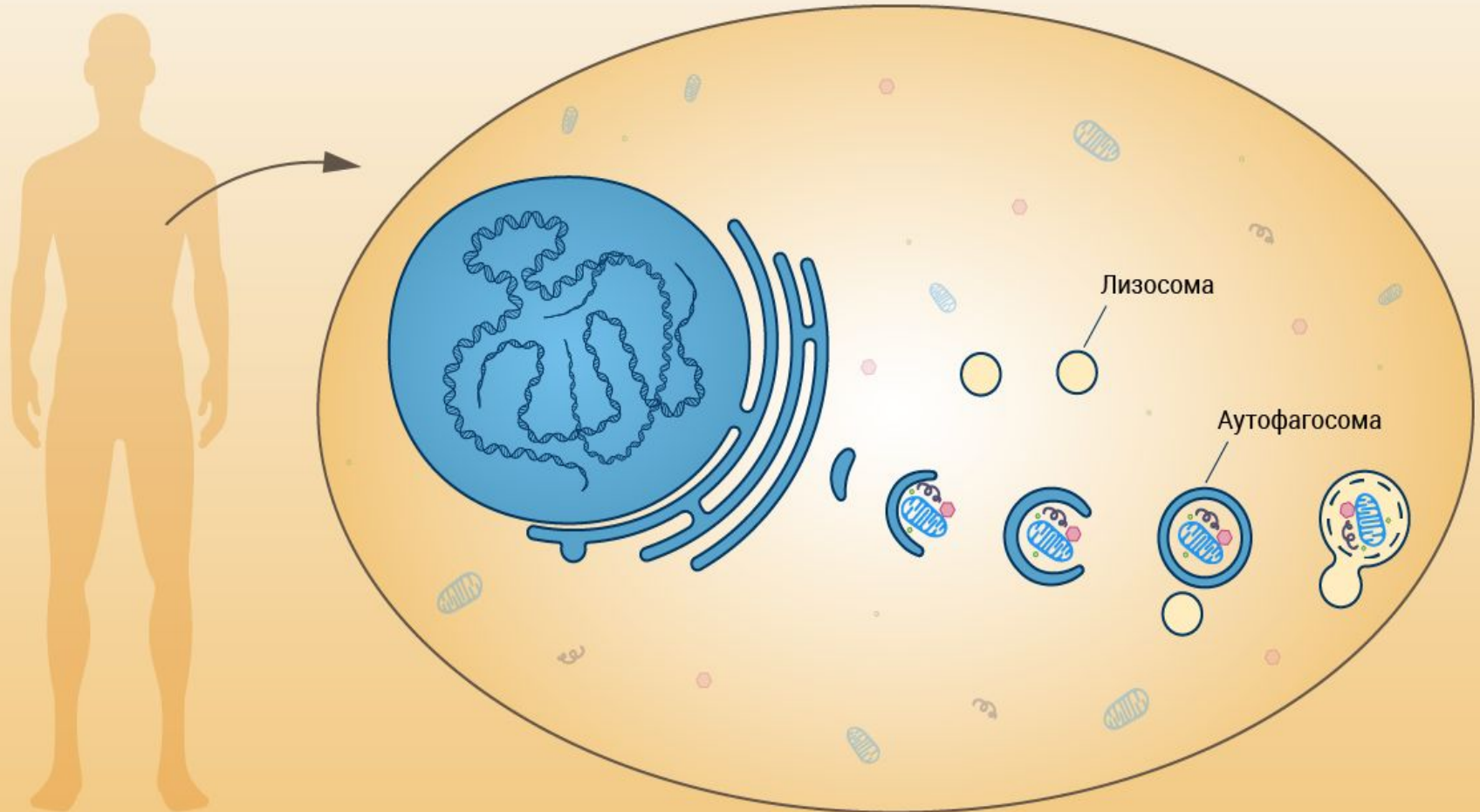
Аутофагия выполняет несколько важных функций:

- 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".



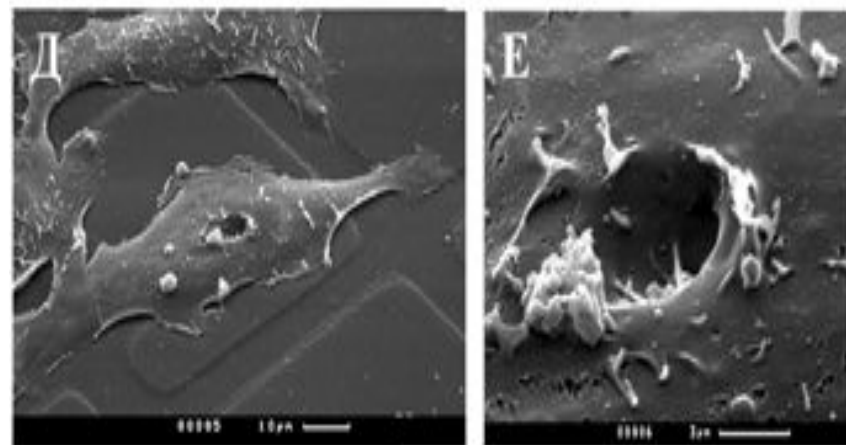
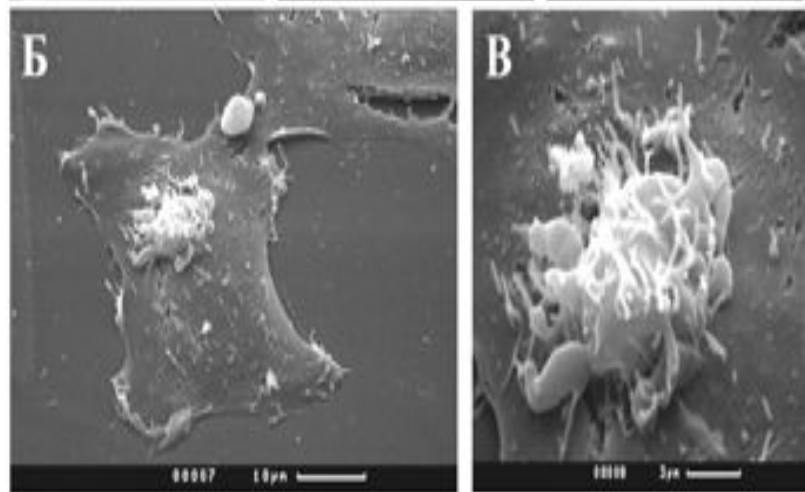
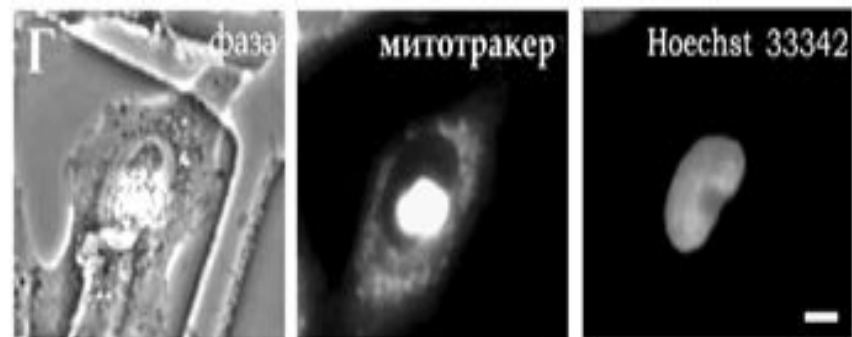
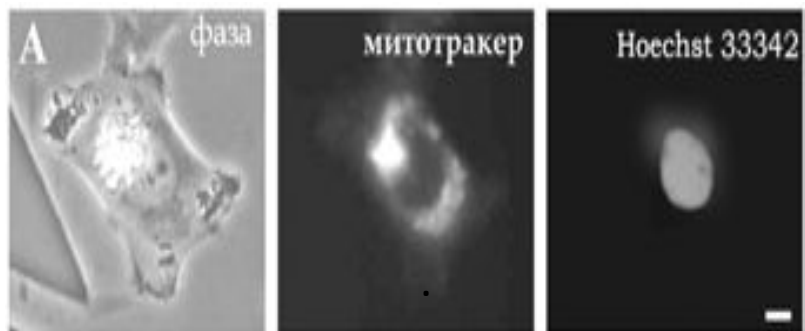
Органелла аутофагосома поглощает "мусорное" содержимое клеток, а затем сливается с лизосомой, внутри которой "отбросы" расщепляются ферментами



Аналоги аутофагии на различных уровнях организации живого.

Биосистема	Процесс	Примеры
Клетка	Аутофагия	<i>Митофагия</i> (утилизация митохондрий) <i>Пексофагия</i> (утилизация пероксисом) <i>Рибофагия</i> (утилизация рибосом) <i>Ретикулофагия</i> (утилизация эндоплазматического ретикулума)
Организм	Спячка, голодание	<i>Апоптоз</i> (утилизация клеток) <i>Потребление собственных тканей</i> (жировая ткань) <i>Оофагия</i> (эмбрионы акулы поедают менее развитых собратьев)
Экосистемы и популяции	Трофические цепи	<i>Хищник–жертва</i> <i>Травоядные животные–растения</i>

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

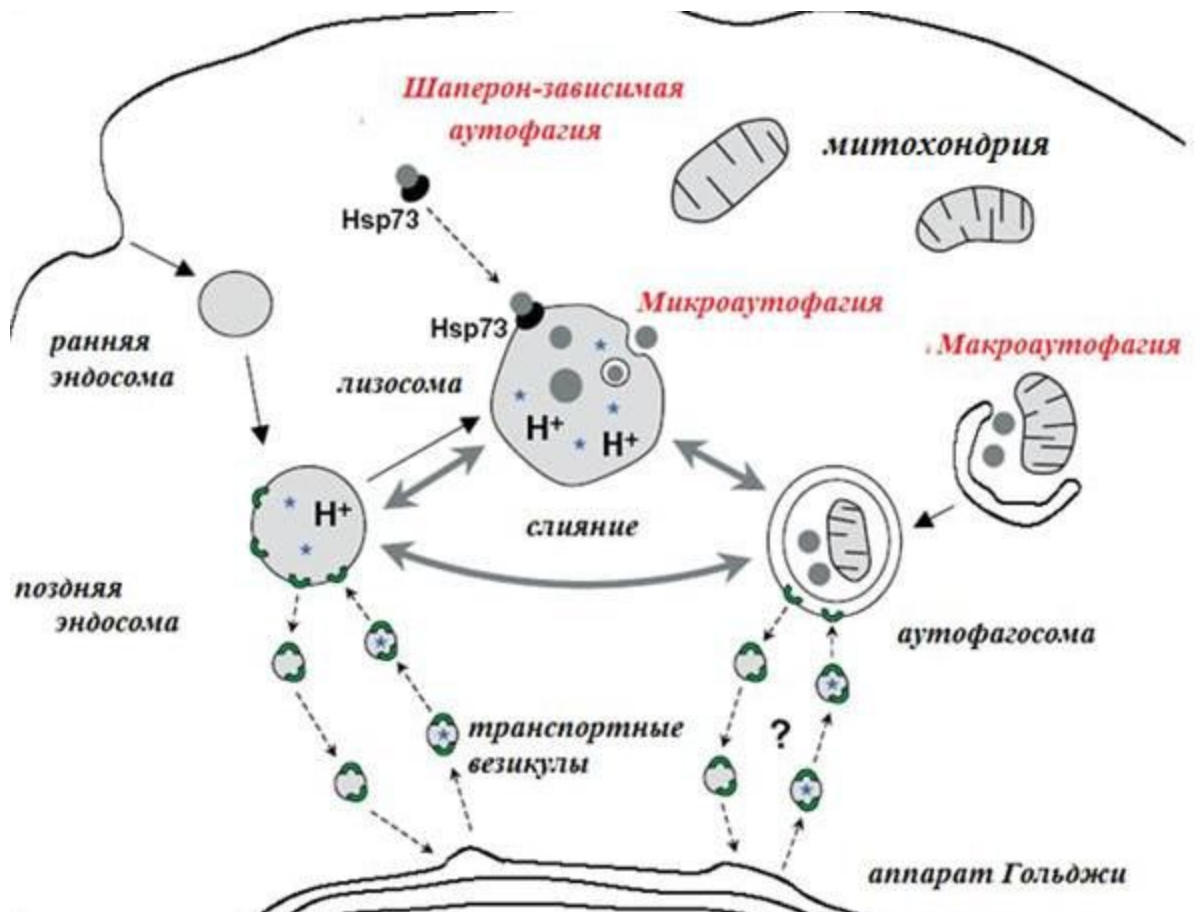
- 1. Микроаутофагия** — макромолекулы и фрагменты мембраны попадают в лизосому путем инвагинации ее мембраны.
- 2. Макроаутофагия** - образование аутофагосом, которые соединяются с лизосомами с образованием аутофаголизосом. Макроаутофагия контролируется **специфическими генами *Atg* (*autophagy-related 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

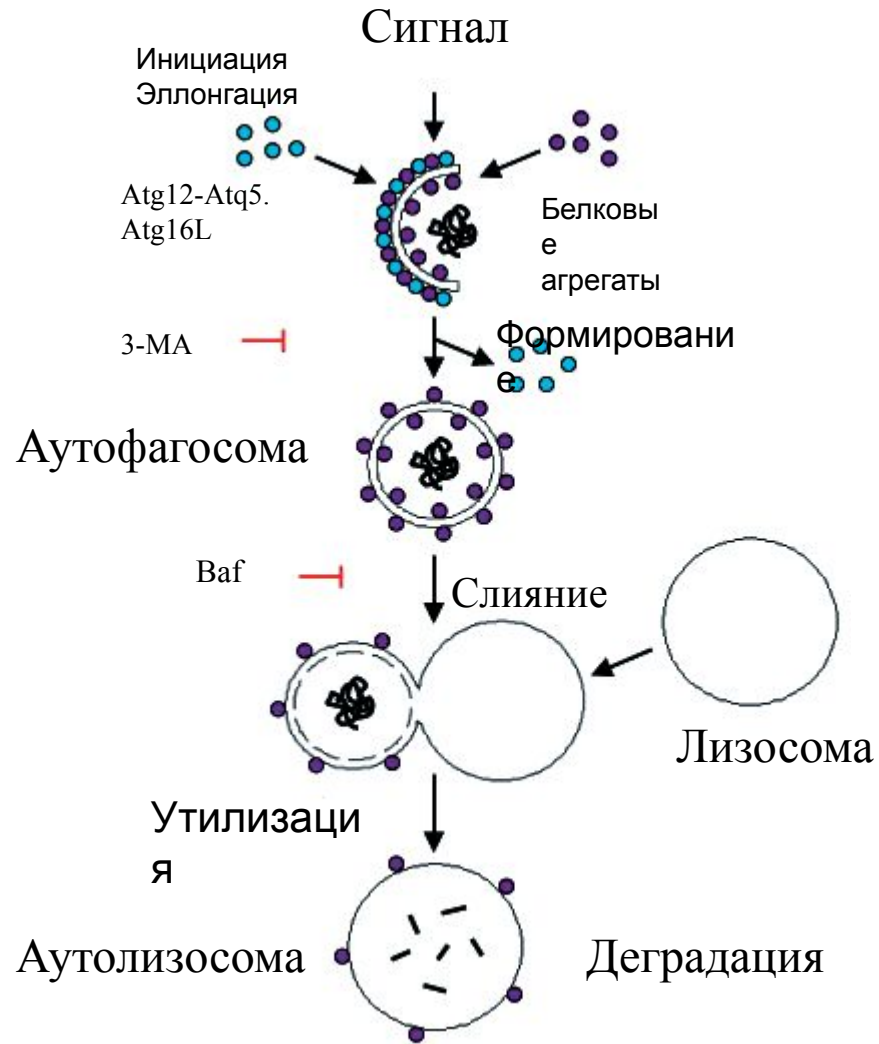
1.Инициация

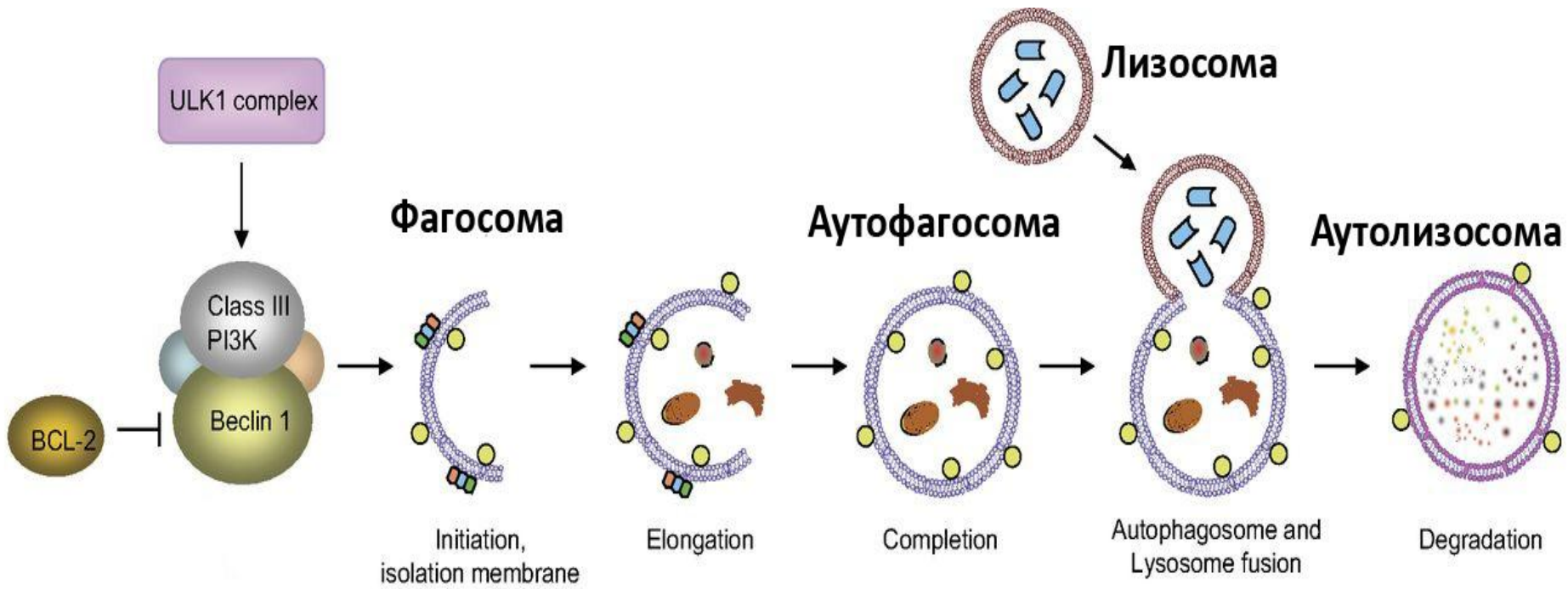
2. Элонгация

3. Формирование аутофагосомы

4. Формирование аутолизосомы

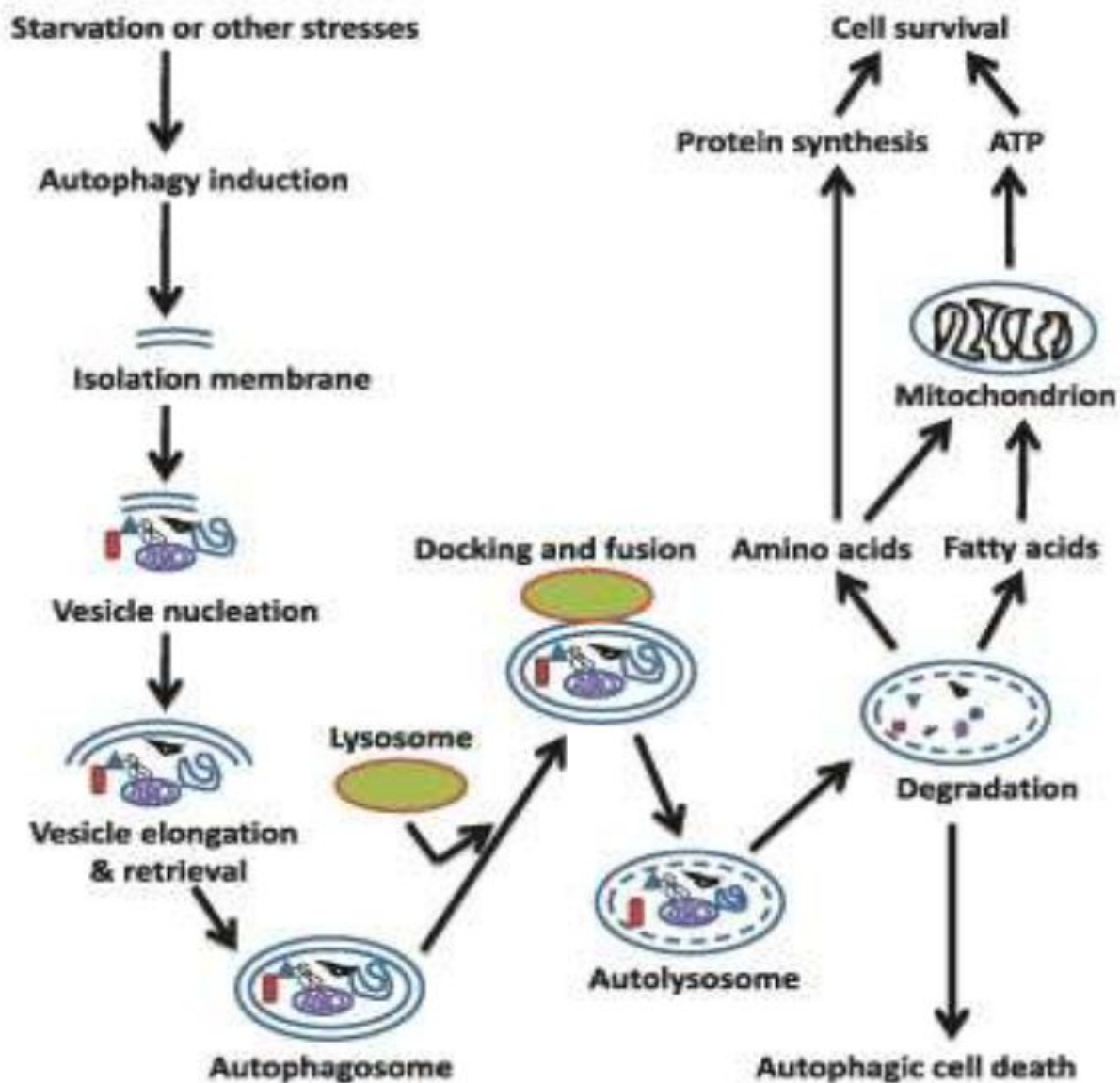
Механизм аутофагии



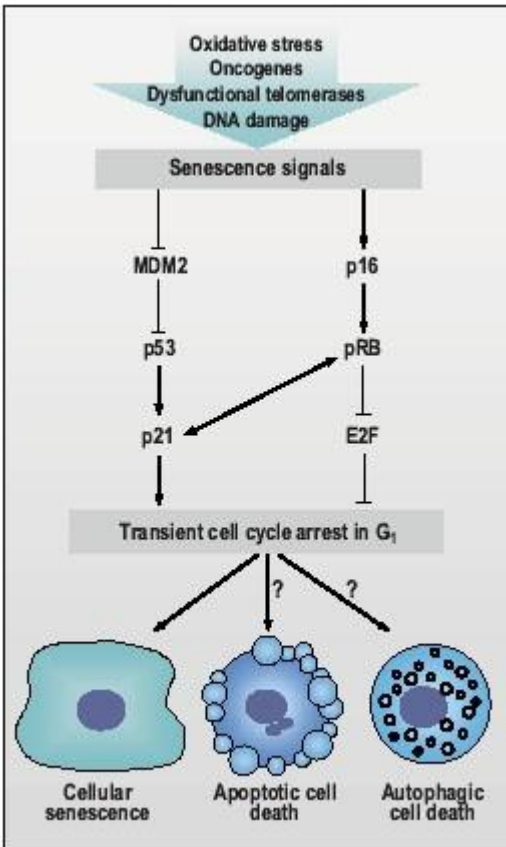
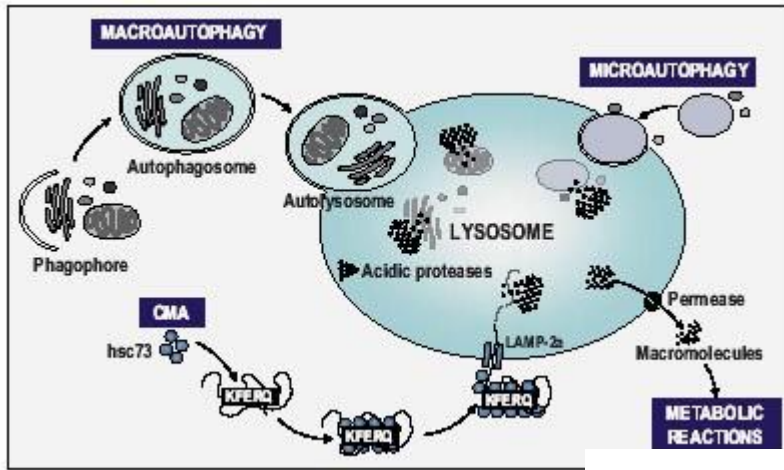


- LC3II
- Atg5-Atg12-Atg16L
- Class III PI3K complex
- Acid hydrolase
- Cargos

Модель аутофагии и аутофагического типа клеточной гибели

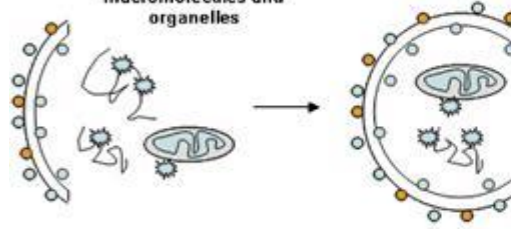


Аутофагия

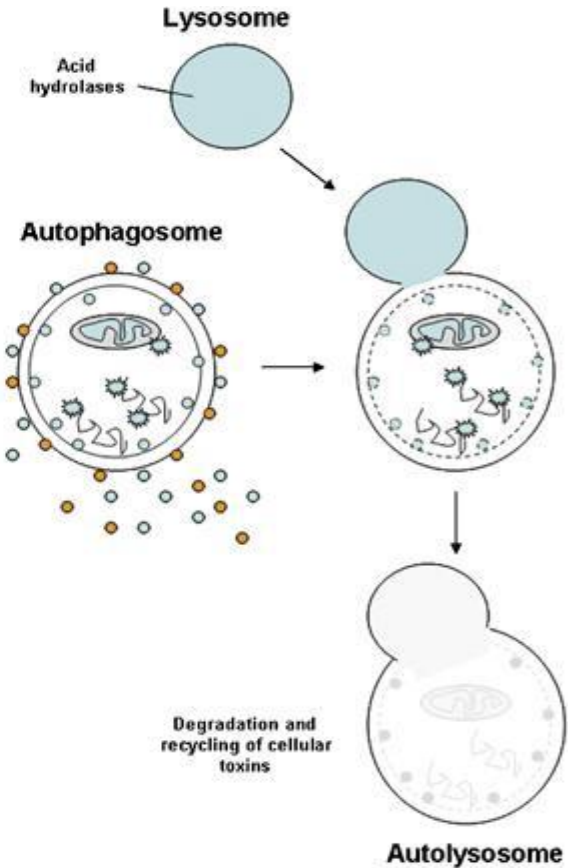


Nucleation and elongation

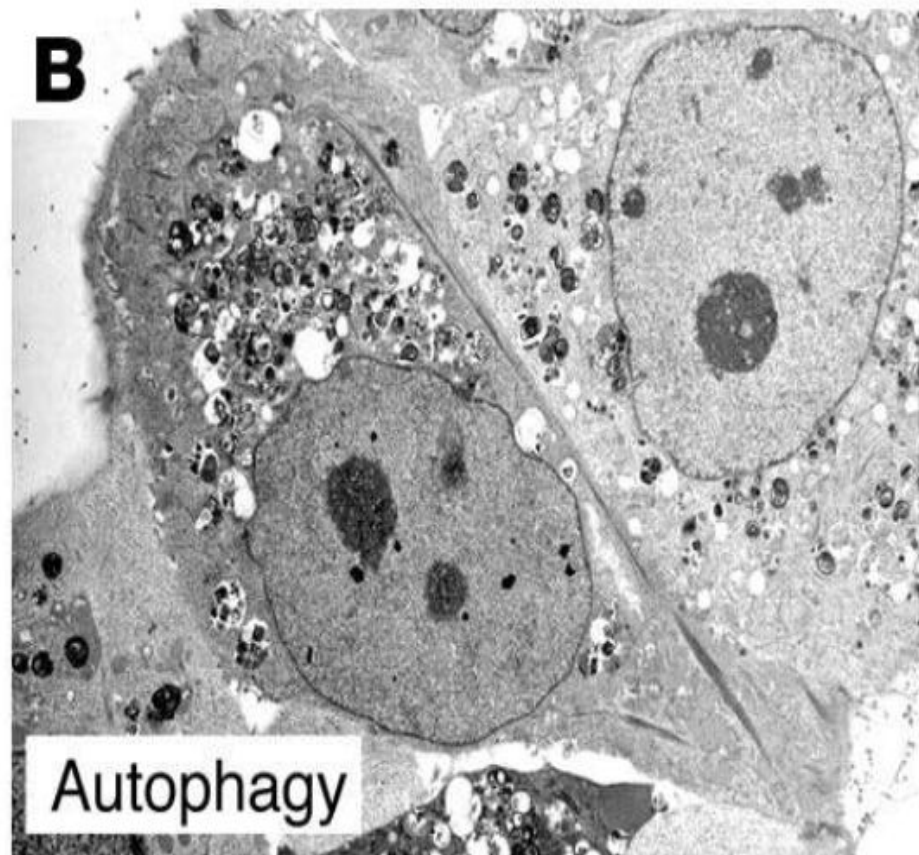
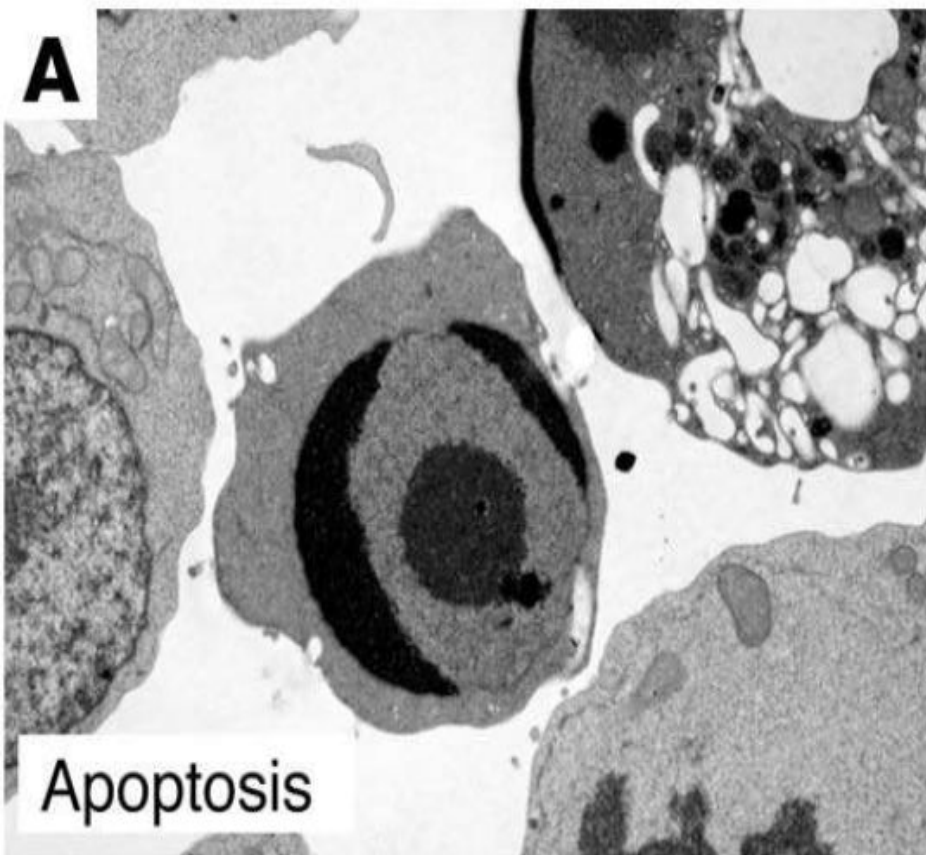
Aberrant, damaged macromolecules and organelles



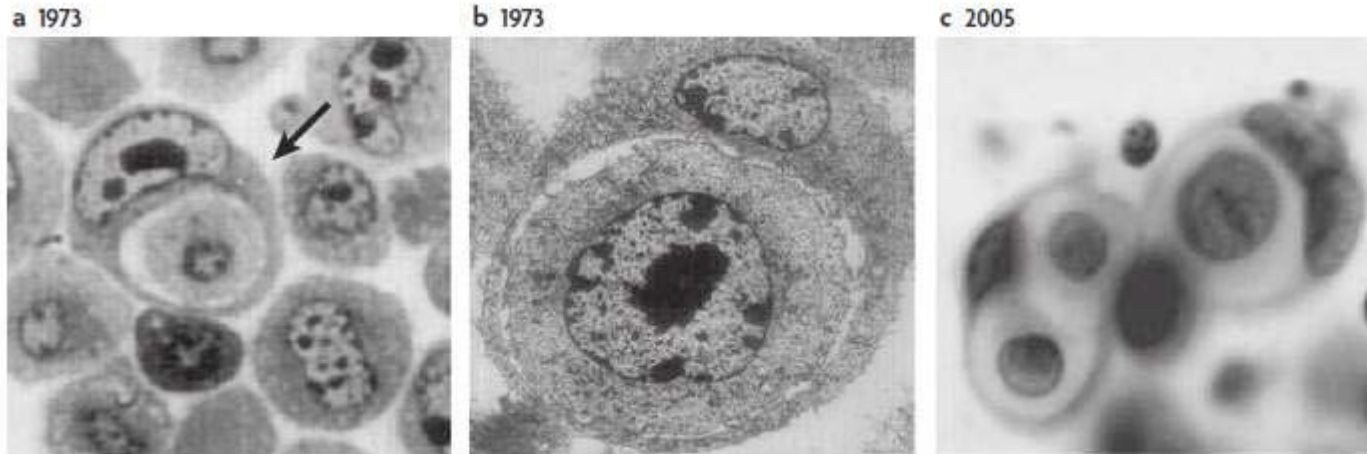
- Atg8-PE/LC3-II
- Atg12-Atg5-Atg16 complex
- ⊛ ROS
- ⊖ Mitochondrion
- ⊗ protein
- ⊙ aberrant, oxidized protein



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)



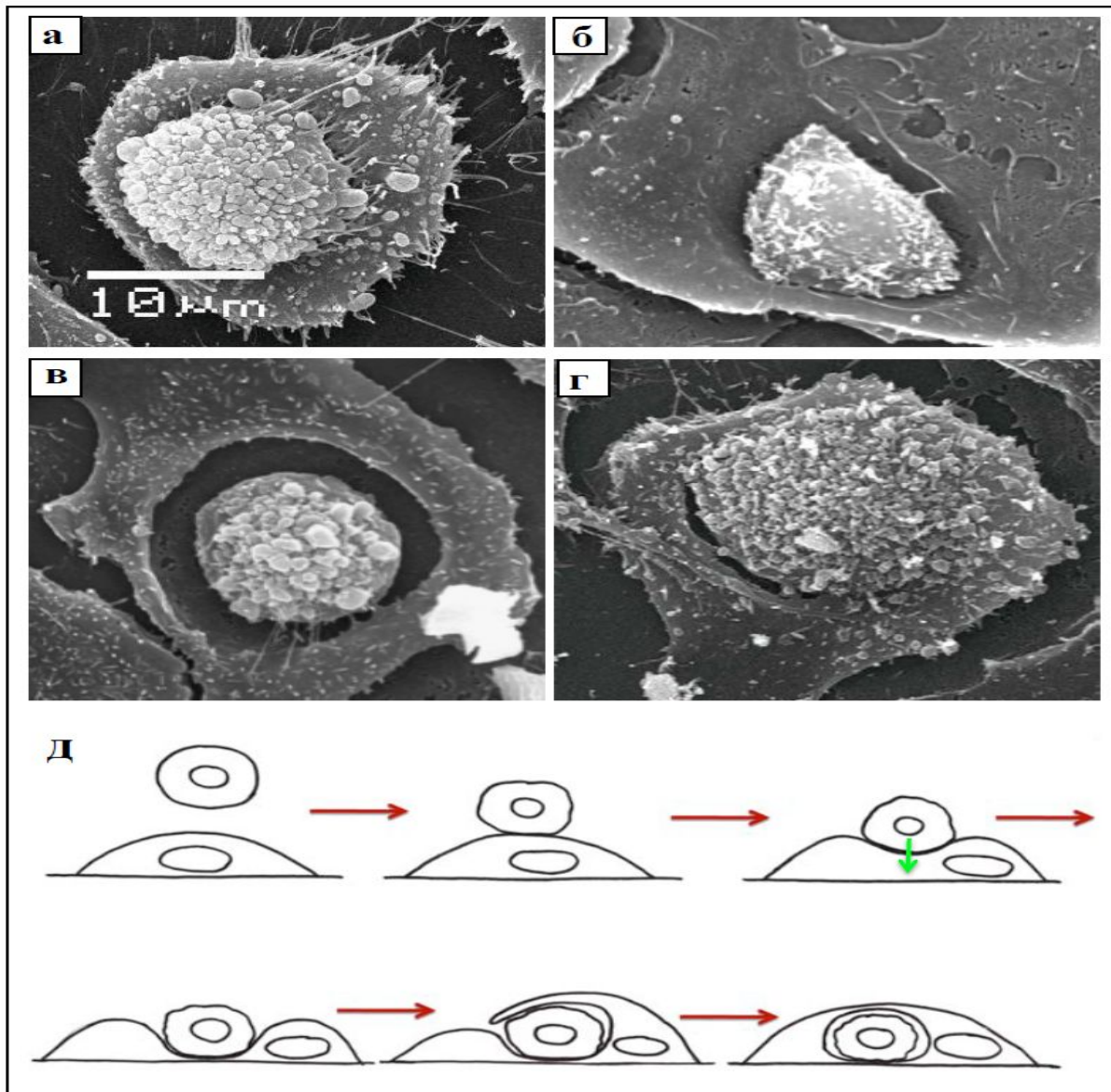
Микрофотографии КК (Overholtzer and Brugge, 2008).

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.

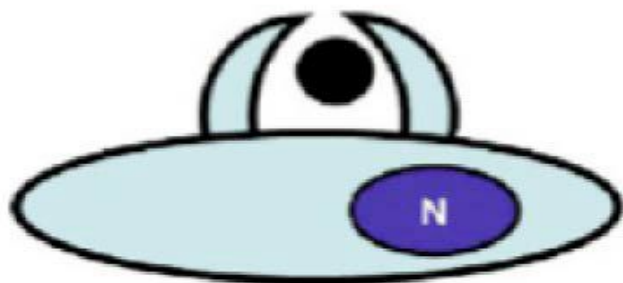
Внедрение клетки в клетку



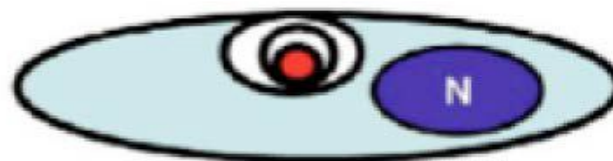
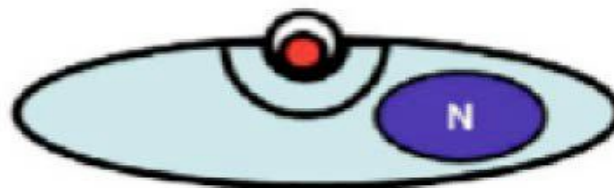
Различия между фагоцитозом и клеточным каннибализмом.



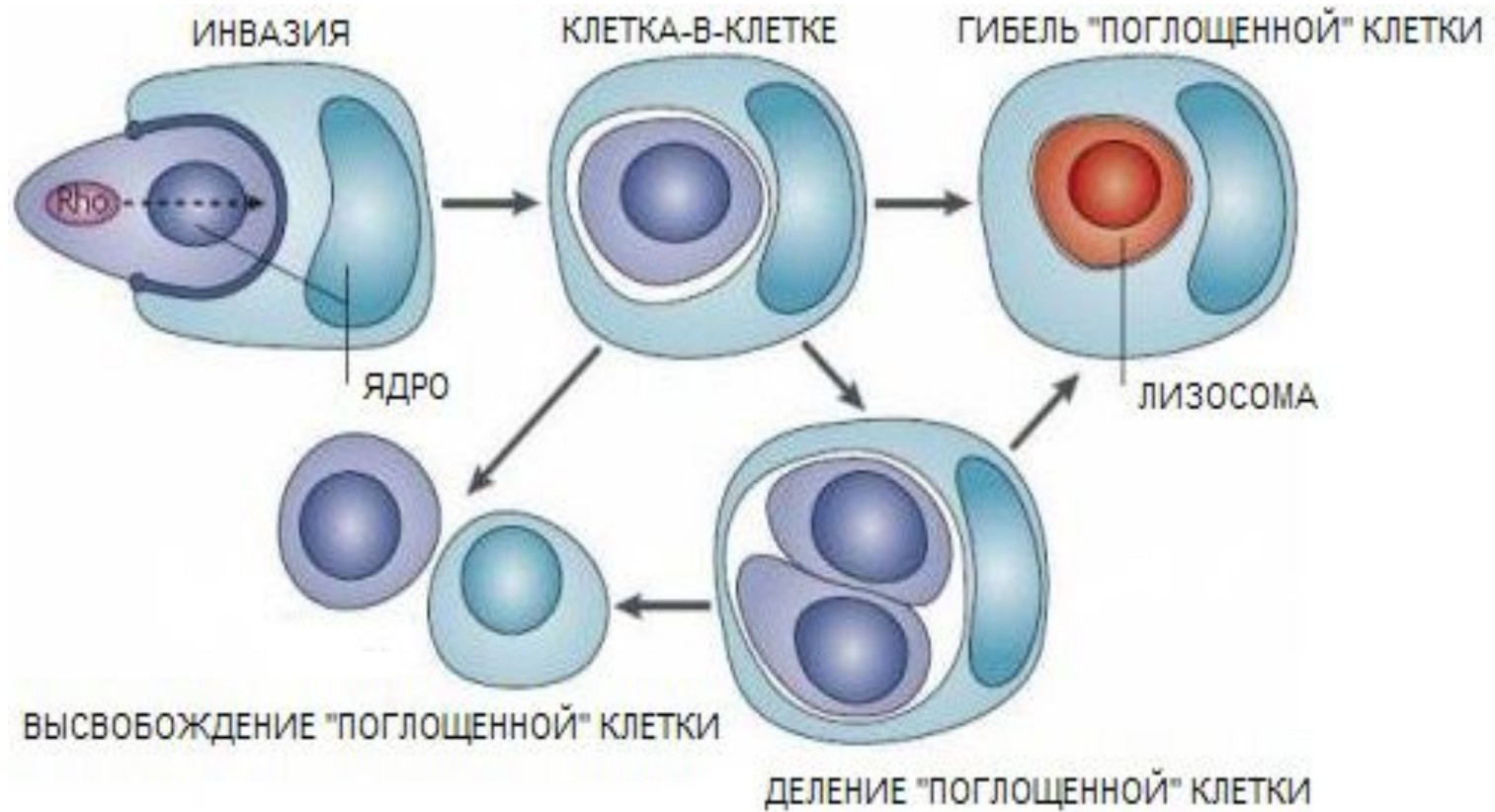
а макрофаг



клетка-каннибал **б**



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.

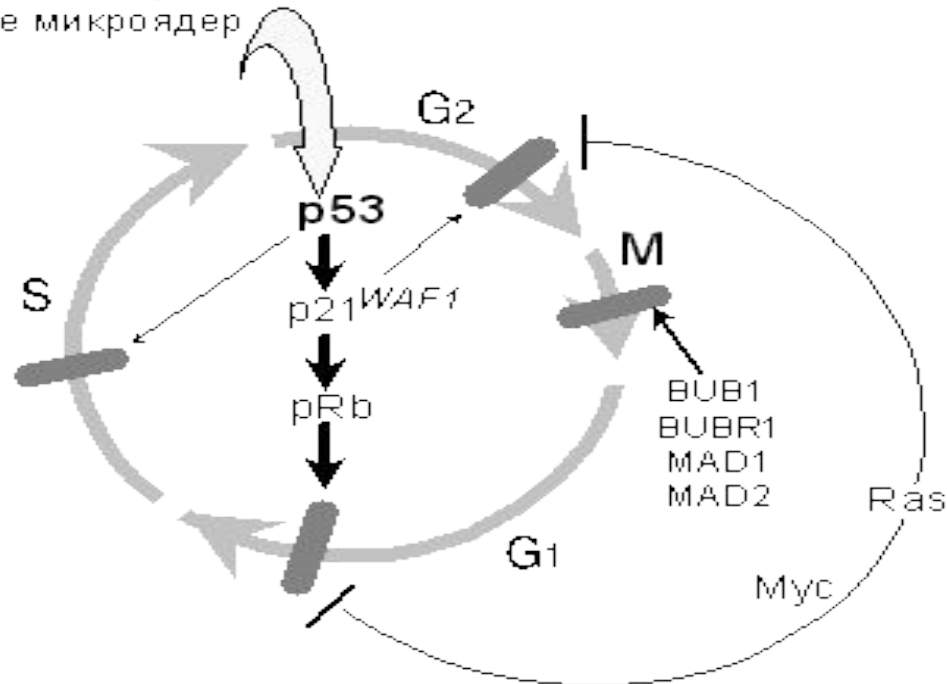
6. Митотическая катастрофа — это гибель клетки в результате грубых нарушений митоза, таких как отставание хромосом в мета- и анафазе, К-митозы и др.

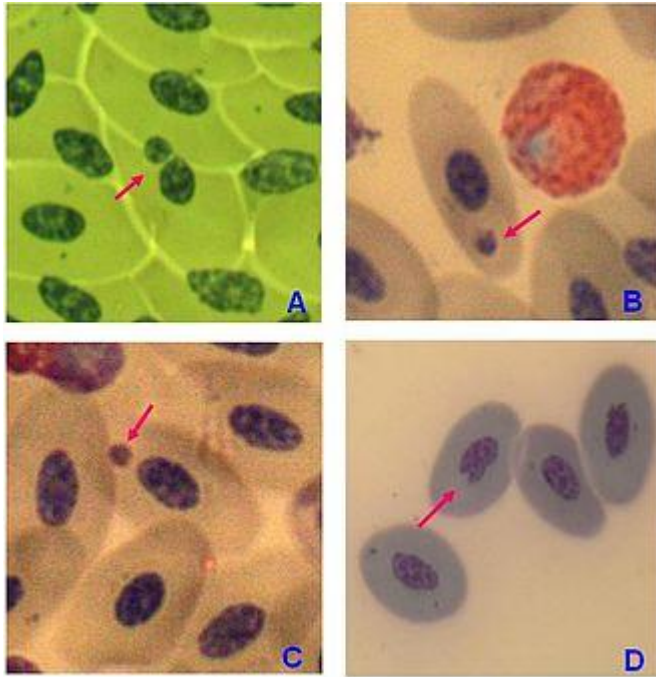
1. Главный морфологический признак — **образование микроядер**, в которых нет конденсации хроматина (отличие от апоптоза). Микроядра образуются путем выброса хроматина из интерфазного ядра.
1. Играет большую роль при действии радиации, применении противоопухолевых препаратов.
1. **Ингибирование прохождения 2-ой сверточной 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

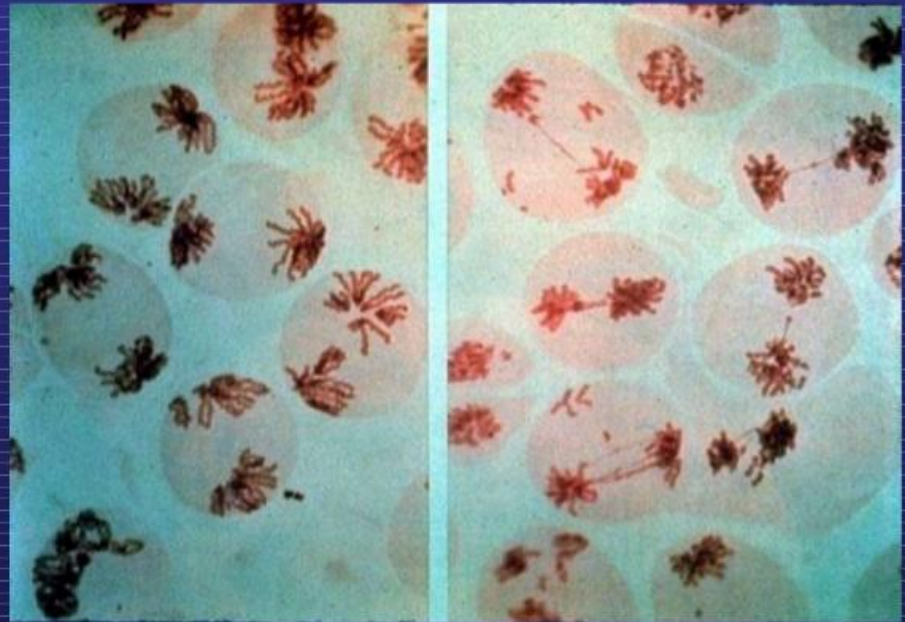
Повреждения ДНК,
дефицит нуклеотидов,
разрушение микротрубочек,
появление микроядер





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 **инфламмосомы** 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 инфламмасомы:

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

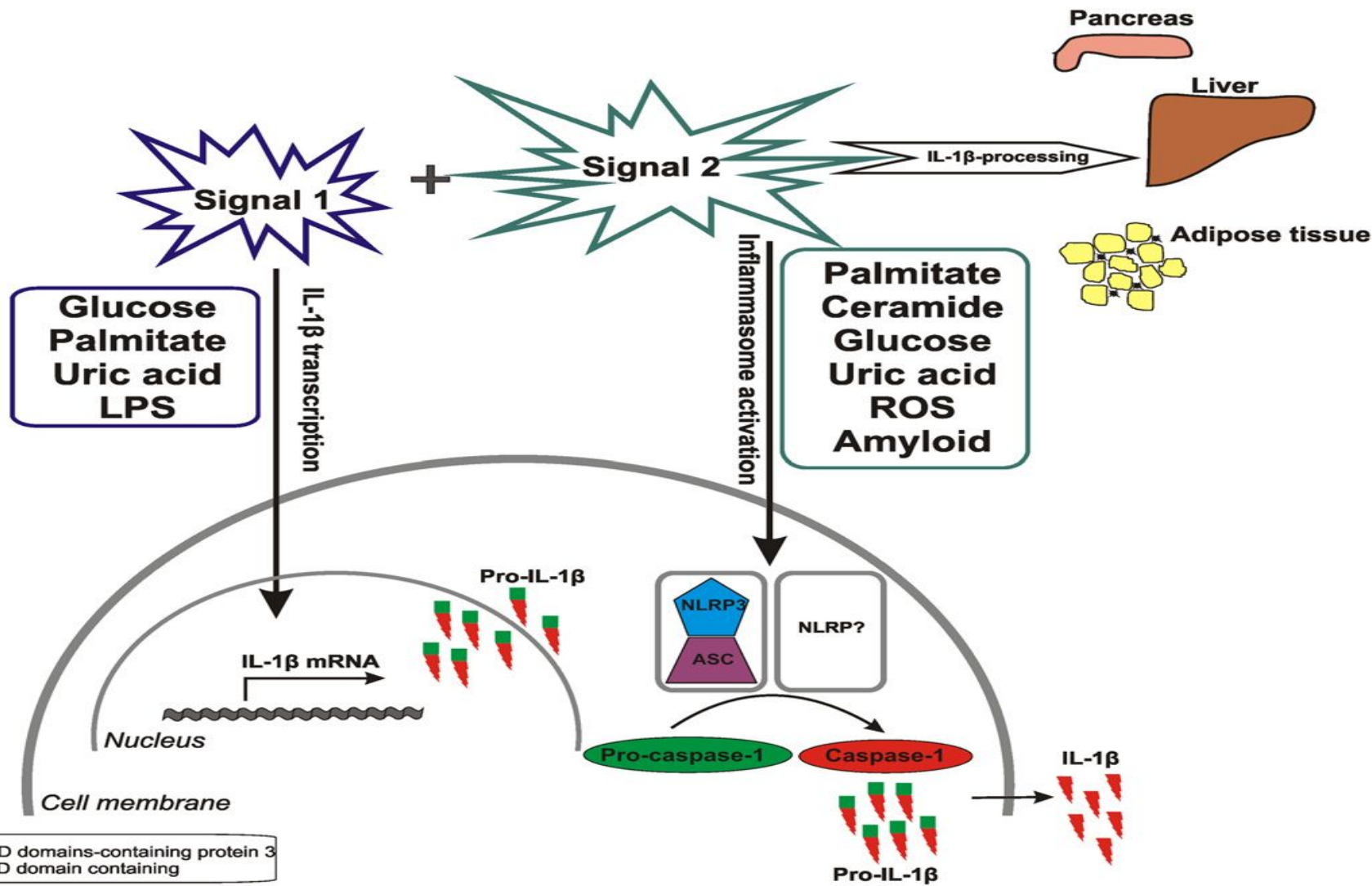
Инфламмасома

- 1) Инфламмасома – цитоплазматические белковые комплексы, распознающие PAMP и DAMP, способствующие активации каспазы-1 и процессингу ИЛ-1 β
- 2) В состав инфламмасомы входит 22 цитоплазматических NOD-подобных белка, в том числе 14 NLRP белков и др. Различают несколько типов инфламмасом: 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 инфламмасомы** путем активация внутриклеточных белков, входящих в ее состав, активация каспазы-1 процессинг ИЛ-1 β

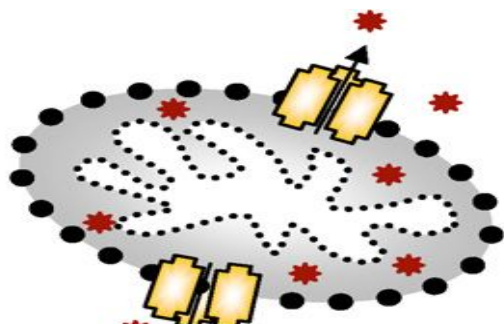
PAMP – патоген ассоциированные молекулярные паттерны

DAMP – ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны

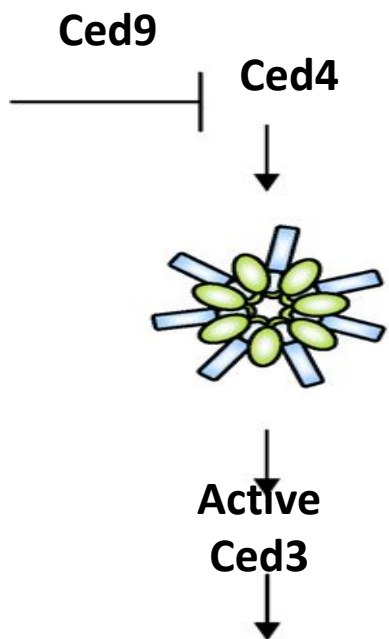
Активация инфламмосомы (из Stienstra et al., 2012)



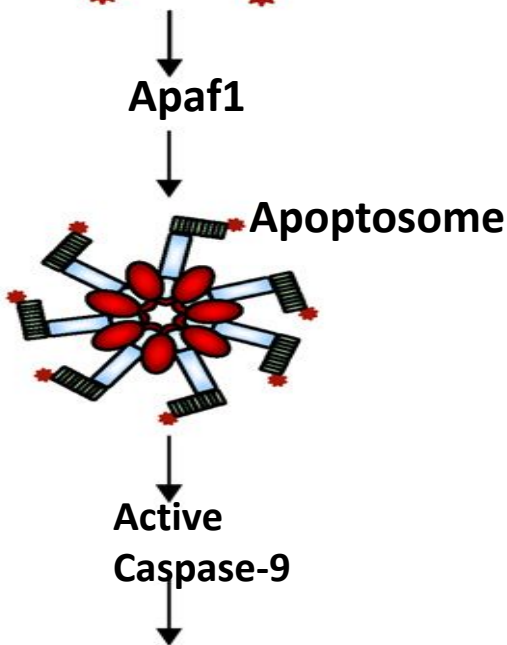
Образование апоптосомы и инфламмосомы



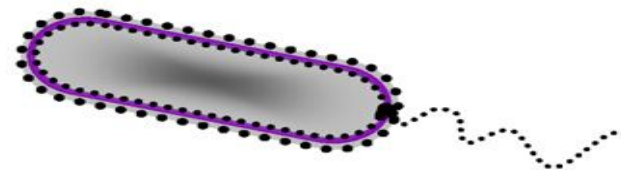
Cytochrome C



APOPTOSIS



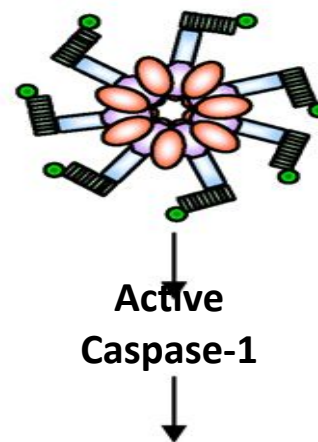
APOPTOSIS



PAMPs

NLRs

Bcl-2,
Bcl-xl



**PYROPTOSIS &
INFLAMMATION**

Строение инфламмосомы

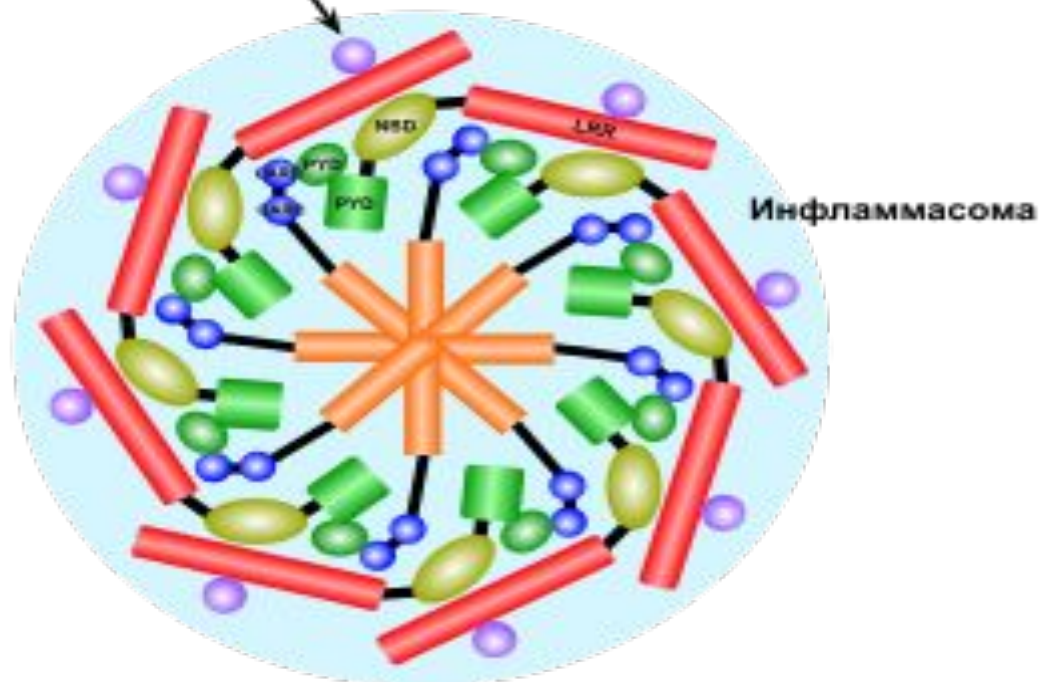
Субъединица
инфламмосомы NLRP3

LRR NBD PYD NLRP3

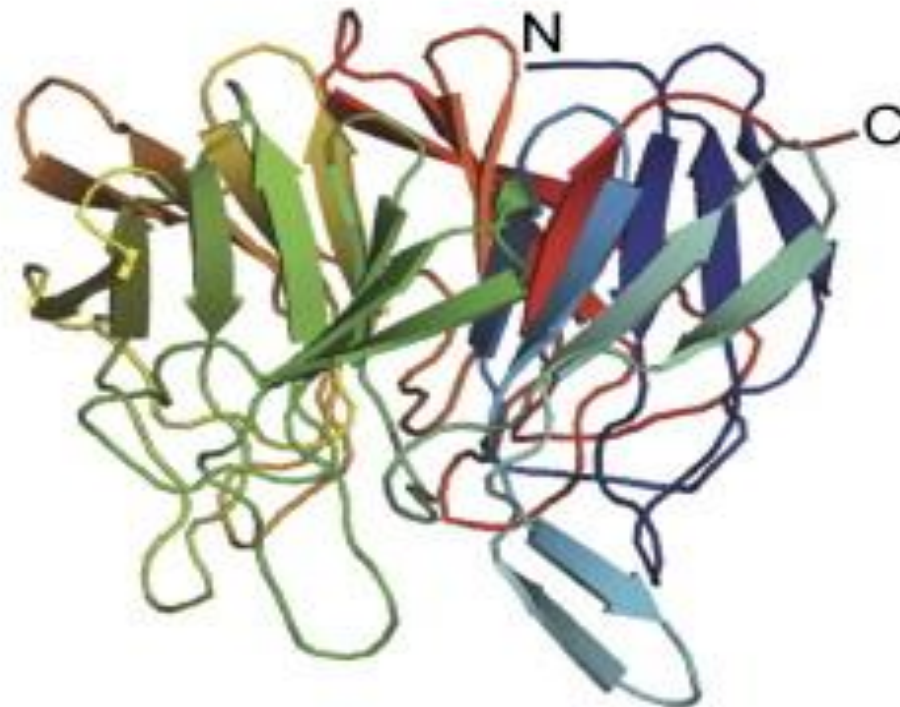
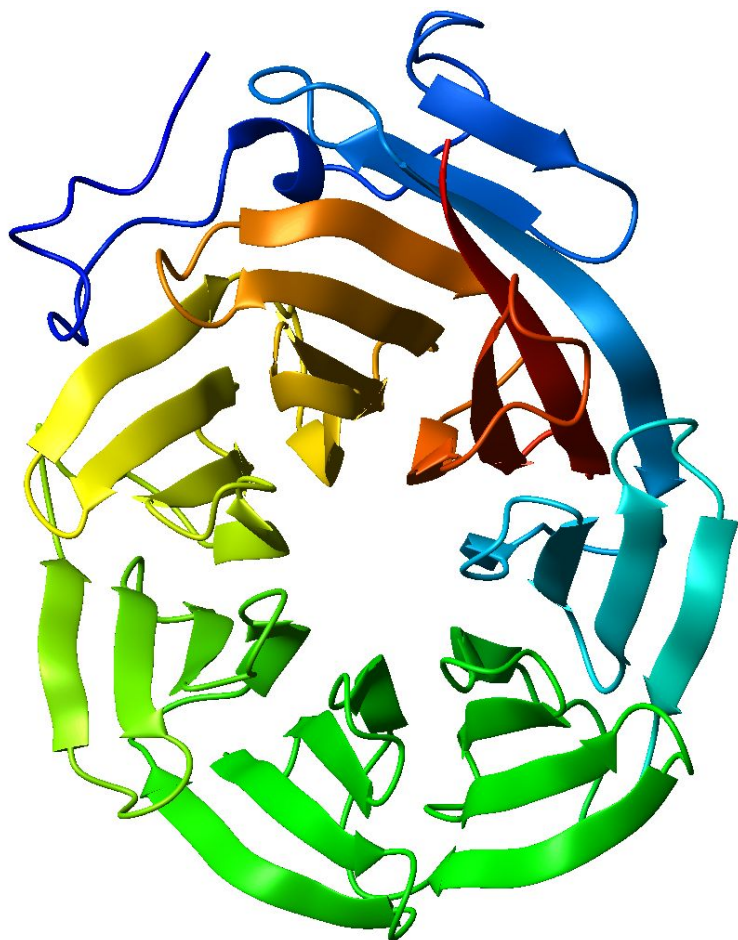
PYD CARD ASC

CARD *большая субъединица* Прокальцитонин-1

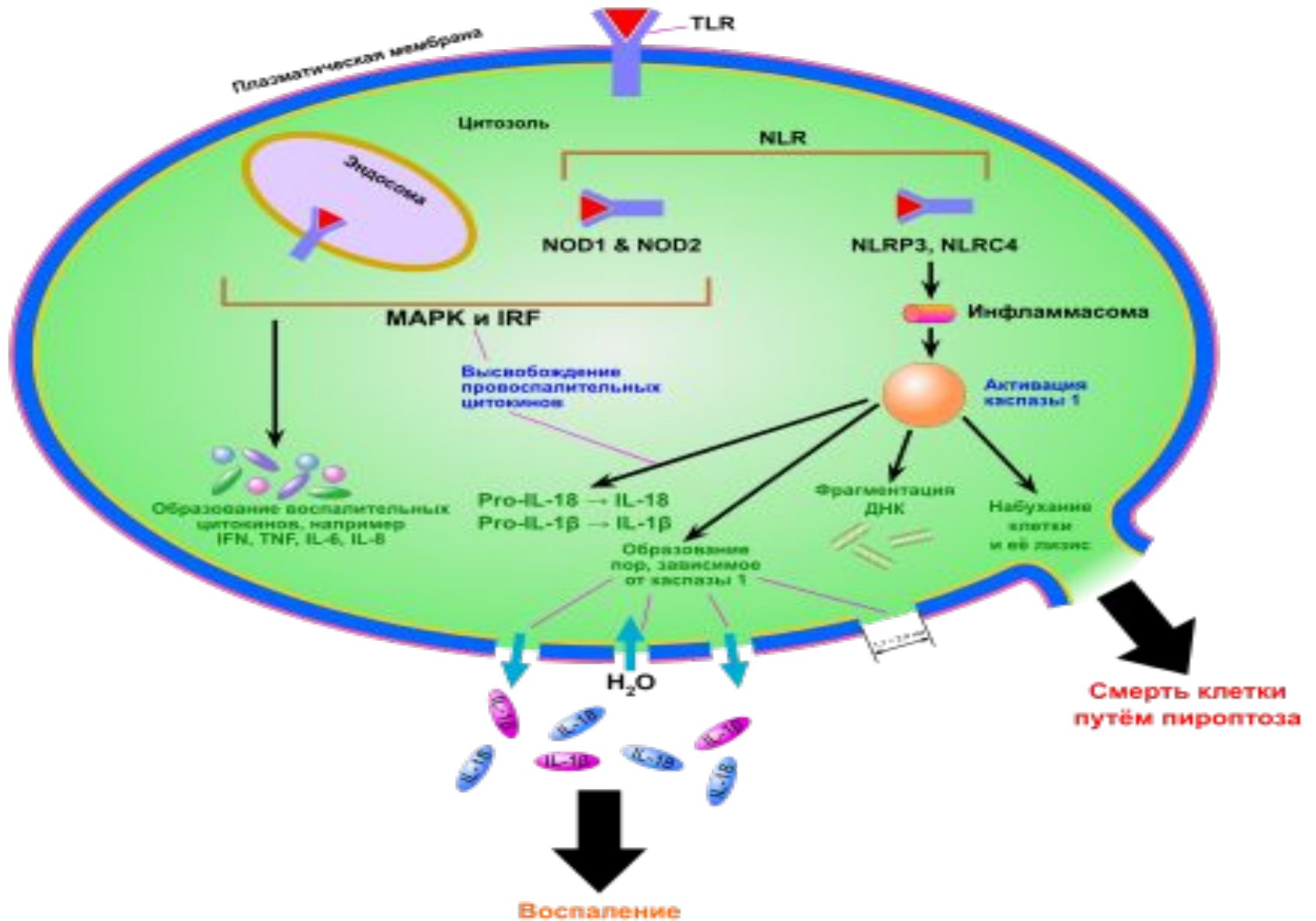
Лиганд



Бета-пропеллер: вид сверху и сбоку



Механизмы пироптоза



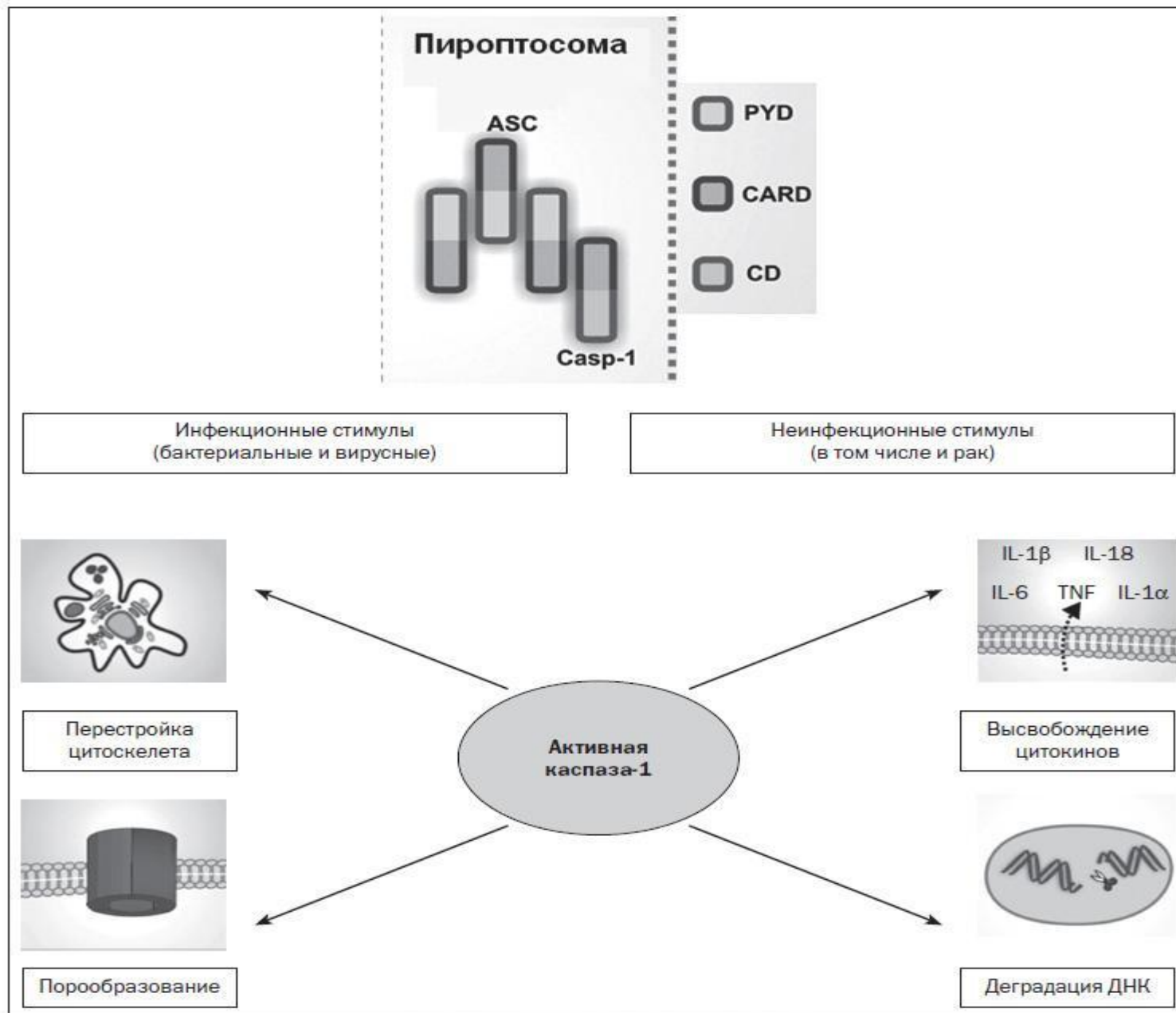
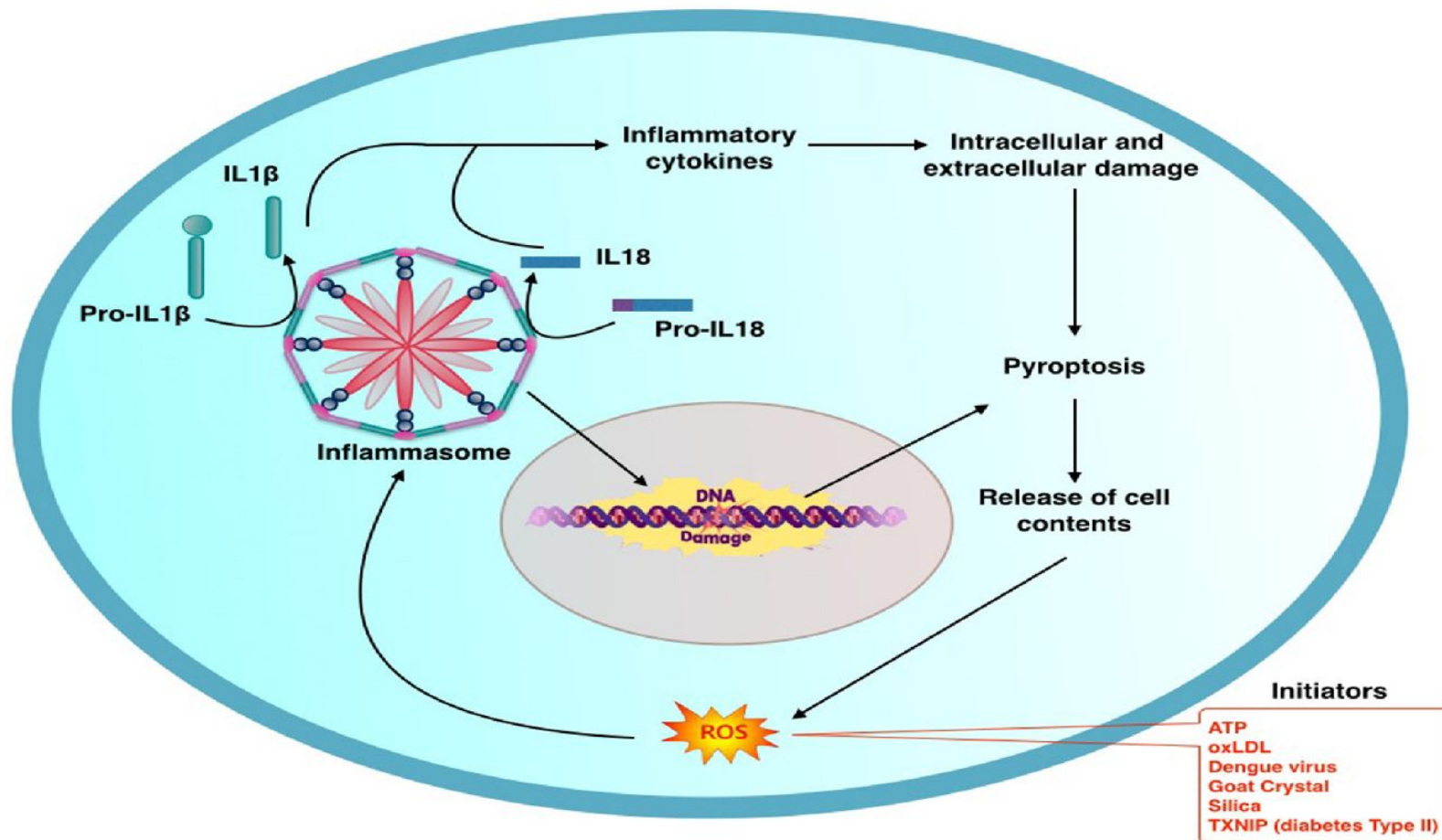


Рисунок 11. Процесс пироптоза [47]

Роль АФК в активации инфламмосомы (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.

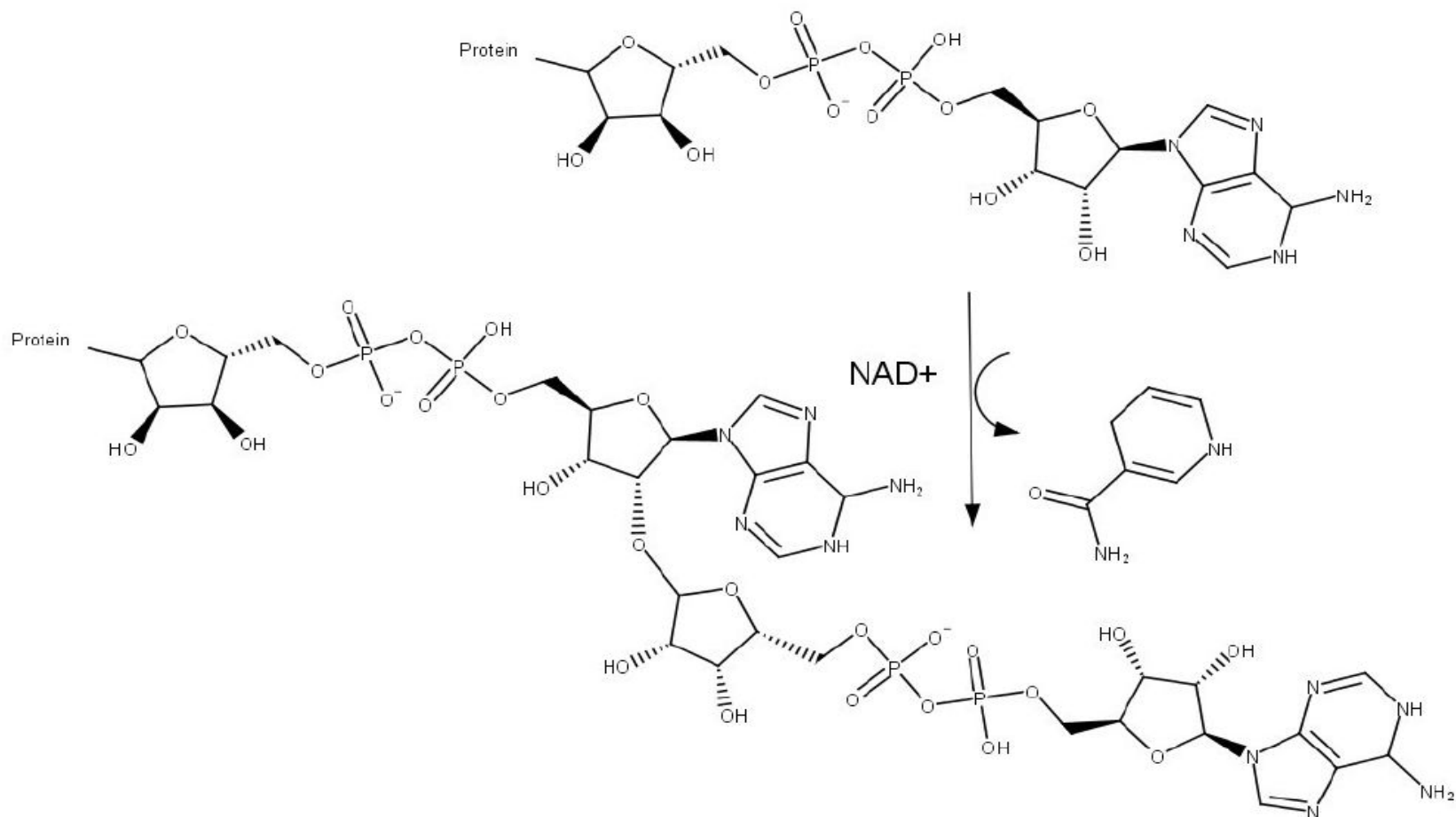
9. Паранотоз

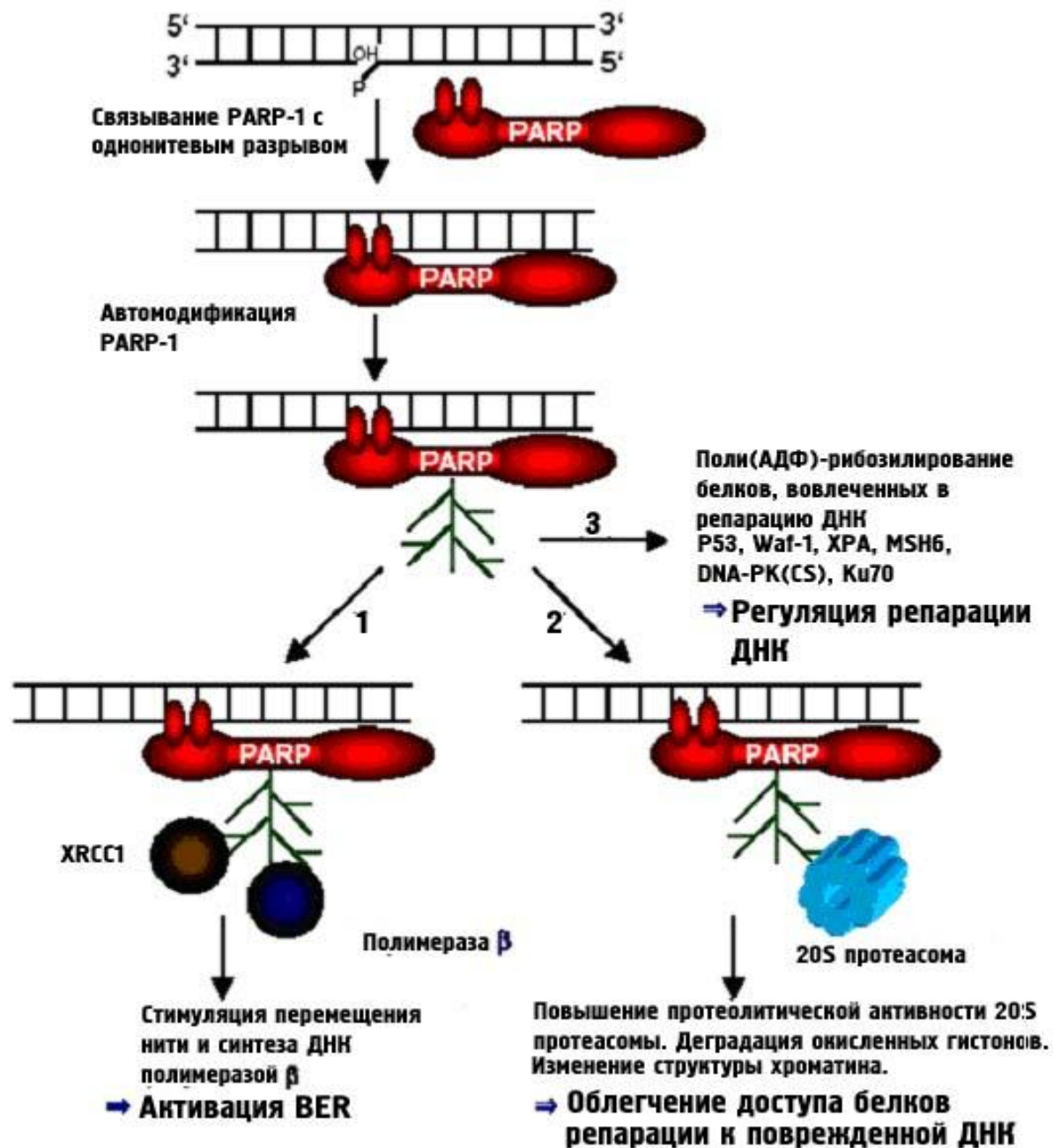
- **Паранотоз** – вариант клеточной смерти, зависящей от активации poly(ADP-ribose)полимеразы (PARPs).
- При повреждении ДНК происходит сверхактивация PARP, дефицит NAD⁺ и АТФ, аккумуляция поли-АДФ-рибозы (PAR), токсичной для митохондрий, → исчезновение митохондриального потенциала и освобождения АИФ.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

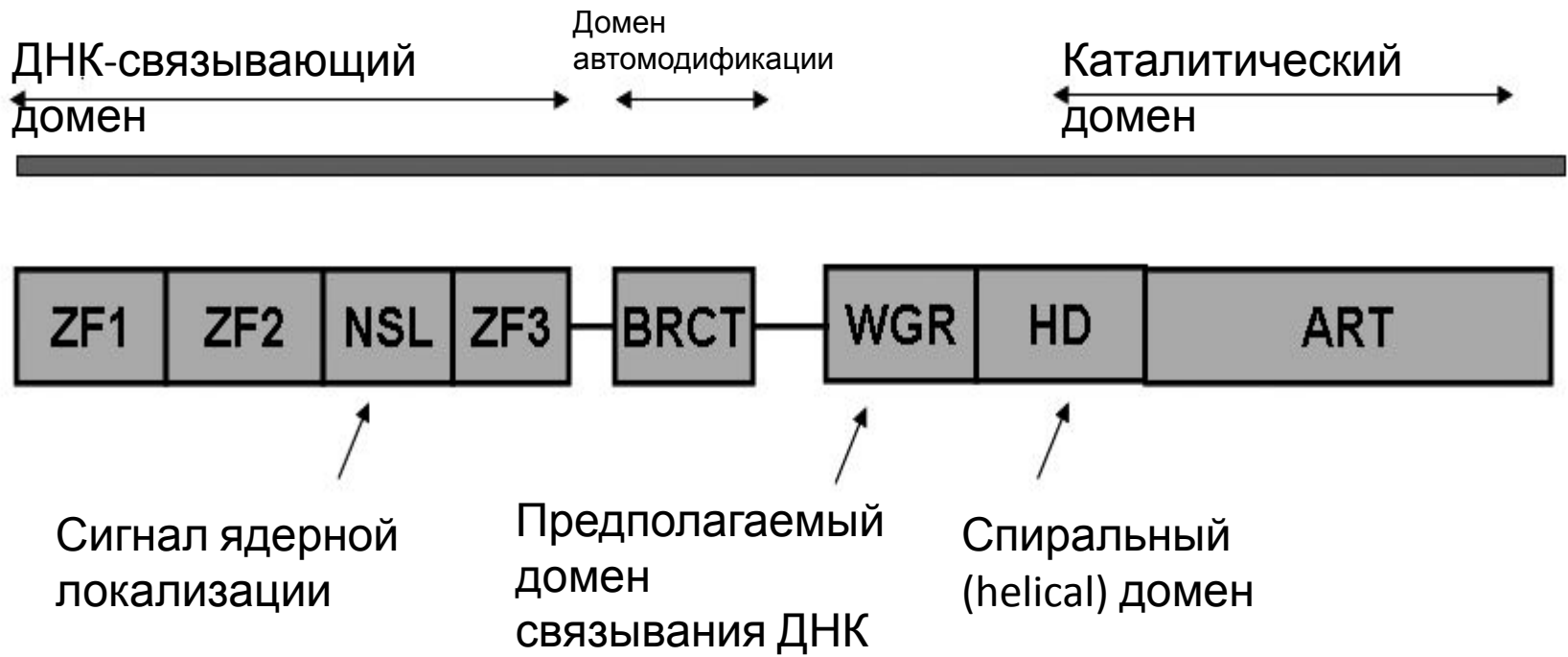
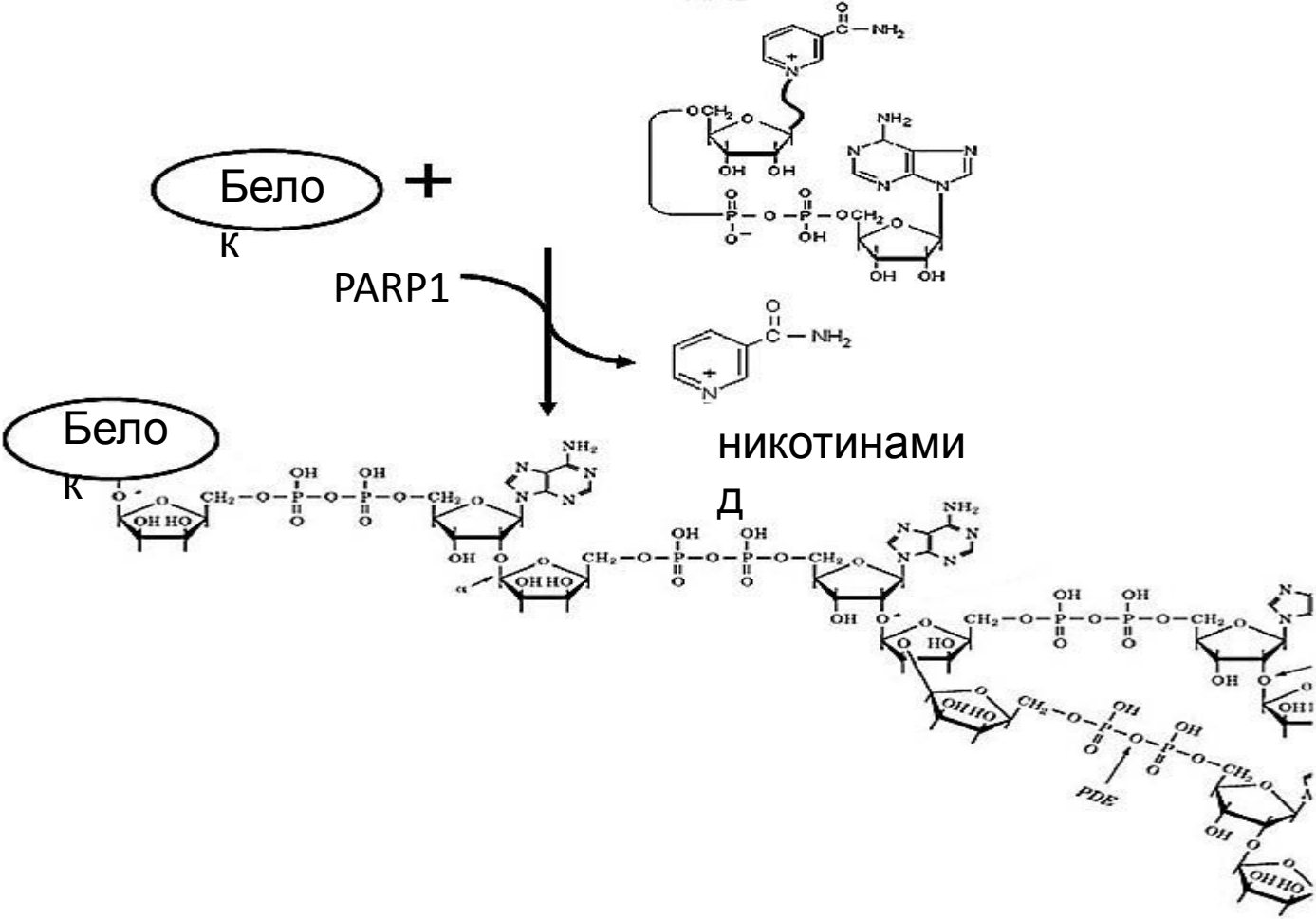
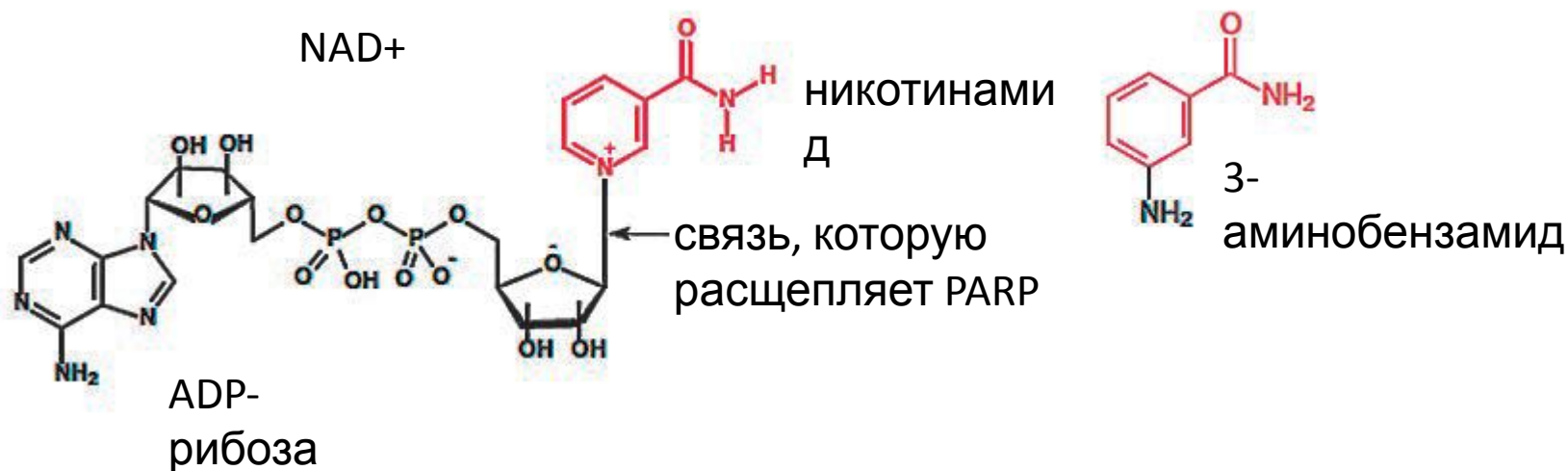


Схема реакции поли(ADP)-рибозилирования белков



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.

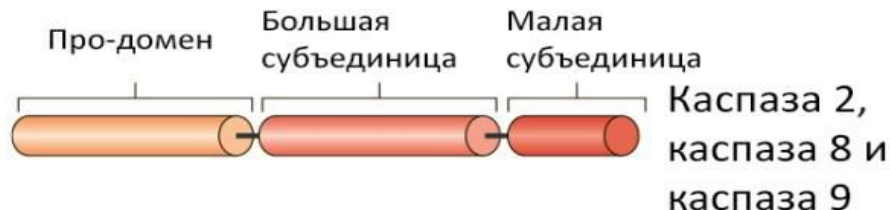
4. Ингибиторы PARP1 рассматриваются в качестве перспективных противоопухолевых агентов, действующих как химио- и радиосенсибилизаторы при традиционной терапии злокачественных образований.

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

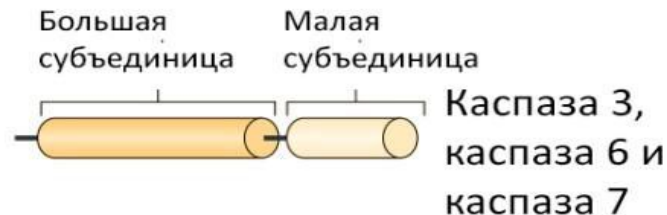
Классификация, строение и процесс активации каспаз двух типов: инициаторной и эффекторной.

А

Инициаторные каспазы

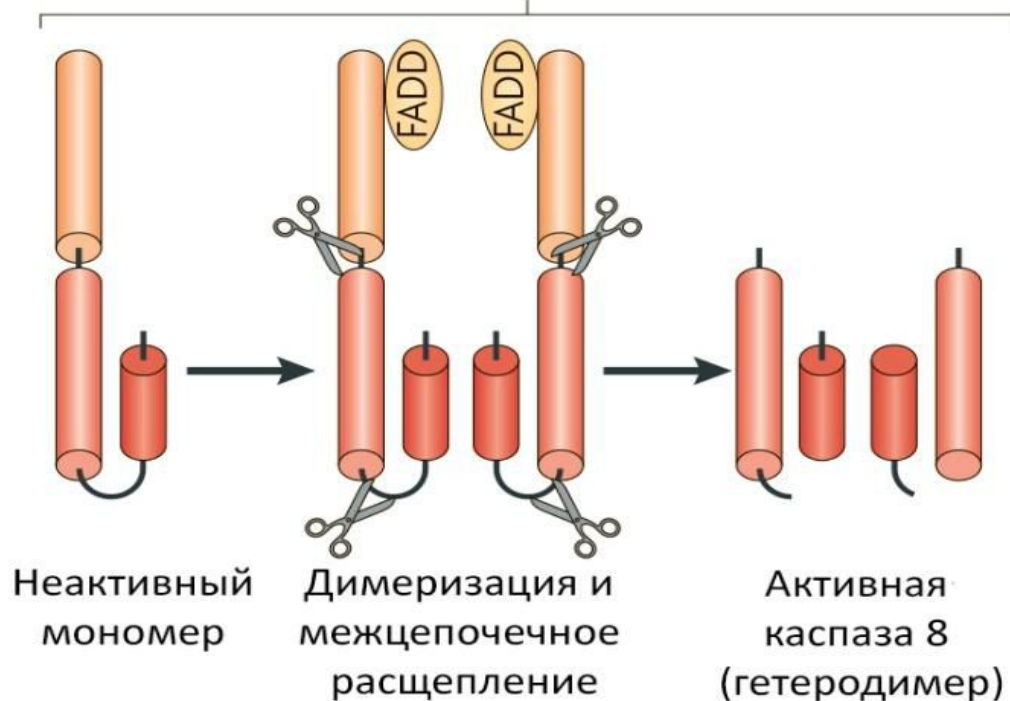


Эффекторные каспазы

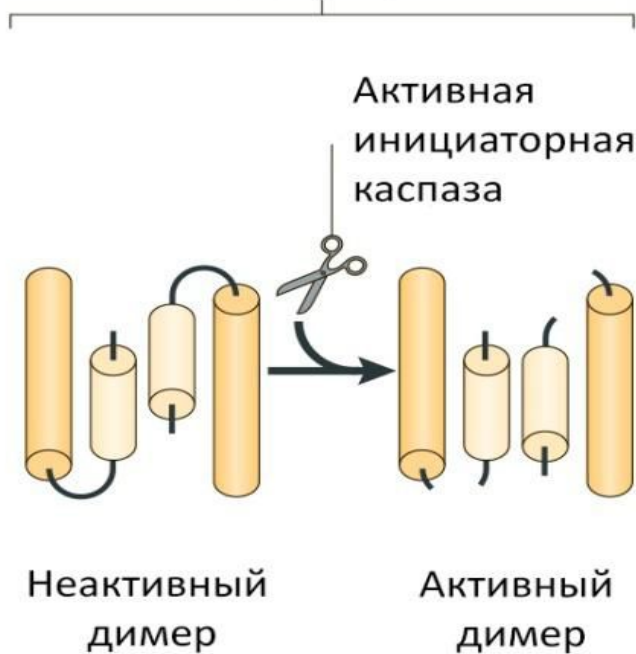


Б

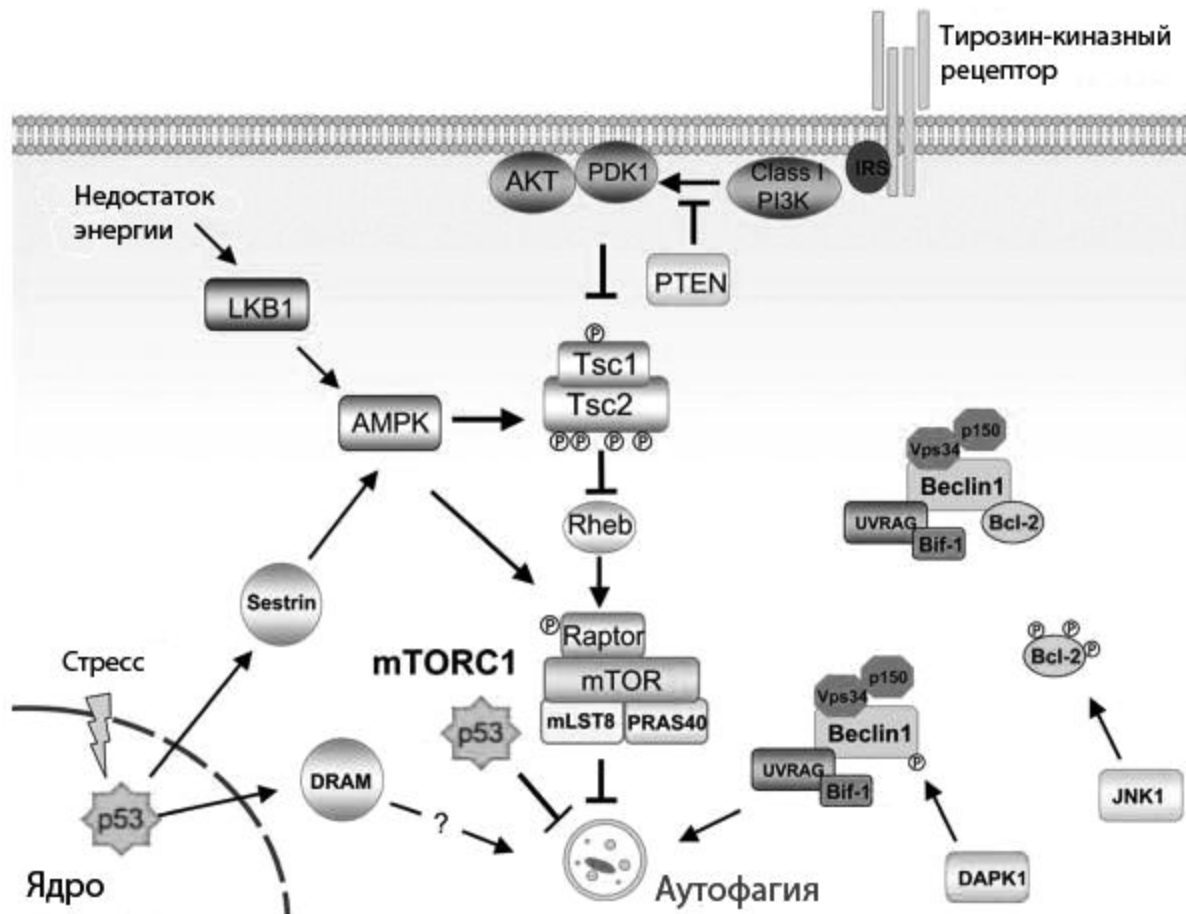
Активация каспазы 8



Активация эффекторной каспазы



Регуляция аутофагии



Роль аутофагии в канцерогенезе

