

# Патофизиология повреждения клетки.

*Доцент кафедры Патофизиологии, клинической патофизиологии  
Замечник Т.В.*

- **Повреждением называется нарушение функционирования клетки, которое сохраняется после удаления повреждающего агента.**

- Нарушение функционирования клетки, вызванное действием неблагоприятных факторов, например недостатком кислорода или действием токсических соединений, может поначалу и не привести к повреждению клетки.
- Как только восстановятся нормальные окружающие условия, клетка вновь вернется в состояние, близкое к исходному.

- **Повреждение клетки может быть вызвано действием на нее повреждающих агентов –**
- **химических** (изменение рН, увеличение концентрации ионов калия, изменение общей концентрации электролитов и, следовательно, осмотического давления),
- **физических** (действие ионизирующей, ультрафиолетовой радиации или очень сильного видимого света, действие высоких доз электромагнитных волн других диапазонов)
- и **биологических** (бактериальные токсины, вирусы, паразиты) **факторов.**

- **Первое событие**, которое в конце концов приводит к повреждению клетки, - это **взаимодействие повреждающего агента с мишенями**-молекулами или клеточными структурами.
- Например, мишенями для ультрафиолетовых лучей могут быть ароматические группы белков, ферментов и рецепторов или нуклеотиды в молекулах ДНК и РНК.
- Мишенью для окиси углерода служат различные гемсодержащие ферменты.
- Мишенью при действии гипоксии оказываются митохондрии, которые перестают запасать энергию в форме аденозинтрифосфата (АТФ).

- Взаимодействие повреждающего фактора с мишенью может приводить к повреждению самой мишени, например, при действии ультрафиолетовых лучей на клетки.
- В других случаях мишень не повреждается действующим агентом, но временно перестает функционировать. И именно это и приводит в конечном счете к повреждению клетки в целом. Например, при действии цианистого калия выключается функция цитохромоксидазы, которая служит мишенью для яда. Это повреждение является первичным, специфическим ответом клетки на конкретный повреждающий агент.

**Между моментом**  
**взаимодействия**  
**повреждающего агента с**  
**мишенью и процессом**  
**повреждения определенных**  
**клеточных структур может**  
**произойти целая цепь**  
**последовательных событий.**

- В ходе эволюции организмы высших животных и человека выработали систему защиты от действия различных повреждающих факторов, а также систему восстановления функций поврежденных клеток.
- **Серьезное повреждение клеток свидетельствует о том, что данные системы защиты и восстановления (репарации) не смогли справиться с действием повреждающего агента.**



# Теорию о неспецифической реакции клеток на повреждение

- Д. Н. Насонов и В. Я. Александров выдвинули в 1940 г. теорию о неспецифической реакции клеток на повреждение, суть которой сводится к следующему - **каким бы ни был повреждающий агент и на какие бы клетки он ни действовал, ответ клеток по ряду показателей является одинаковым.**
- *Эта цепь событий, начиная от первичного процесса взаимодействия повреждающего агента с мишенью и заканчивая необратимым повреждением и (или) гибелью клетки называется неспецифическим ответом клетки на повреждение.*

## РОЛЬ СПЕЦИФИЧЕСКИХ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ПОВРЕЖДЕНИЯ КЛЕТКИ.

- Взаимодействие повреждающего фактора с мишенью может приводить к повреждению самой мишени, что наблюдается, например, при действии ультрафиолетовых лучей на клетки. В других случаях мишень не повреждается действующим агентом, но временно перестает функционировать. И именно это и приводит в конечном счете к повреждению клетки в целом.
- Например, при действии цианистого калия выключается функция цитохромоксидазы, которая служит мишенью для яда. Но фермент не повреждается: если удалить цианид из окружающей среды, функция цитохромоксидазы восстановится. Причиной гибели клетки является последующее (неспецифическое) повреждение клеточных структур, вызванное длительным прекращением энергообеспечения.

# ОБЩИЕ (неспецифические) МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ КЛЕТКИ.

- 1. Увеличение проницаемости цитоплазматической мембраны*
- 2. Нарушение структуры и функций митохондрий*
- 3. Ацидоз*
- 4. Повреждение эндоплазматического ретикулума*
- 5. Изменение активности ферментов и рецепторов*
- 6. Повреждение генетического аппарата клетки*

# ***1. Увеличение проницаемости цитоплазматической мембраны***

- **А. Снижение мембранного потенциала покоя.**
- Разность электрических потенциалов между содержимым клетки и окружающей средой (мембранный потенциал покоя) создается в основном диффузией ионов калия из клетки в окружающую среду.
- Неравномерное распределение ионов между клеткой и окружающей средой, лежащее в основе генерации электрических потенциалов на мембране, обеспечивается бесперебойной работой молекулярных ионных насосов ( $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы и  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ -АТФазы), встроенных в мембраны клеток.

- **Б. Уменьшение электрического сопротивления ткани.**
- При повреждении клеток наблюдается уменьшение омического сопротивления тканей, связанное в основном с возрастанием ионной проницаемости клеточных мембран.

- **В. Выход ионов калия из клеток.**
- Освобождение калия из клеток описано при механической травме, различных интоксикациях, аллергических состояниях, гипоксии и многих других повреждениях органов и тканей.
- Понижение содержания ионов калия в клетке может происходить также под влиянием больших доз минералокортикоидных гормонов, при действии некоторых лекарственных веществ, например сердечных гликозидов.
- Увеличение концентрации калия во внеклеточной среде приводит к снижению мембранного потенциала соседних клеток, что в случае электровозбудимых тканей может вызвать генерацию потенциалов действия.
- Например, увеличение концентрации калия в очаге инфаркта миокарда может стать одной из причин возникновения фибрилляции сердца.

- **Г. Накопление ионов кальция в цитоплазме.**
- В нормальных клетках концентрация ионов кальция в цитоплазме характеризуется исключительно низкими значениями. При этом следует иметь в виду, что ионы кальция проходят в клетку не только самопроизвольно (процесс «утечки» через мембрану), но и (в некоторых клетках) через кальциевые каналы в мембране. Эти каналы могут открываться в ответ на изменение мембранного потенциала, присоединение гормонов и медиаторов к мембранным рецепторам.
- Компенсирует вход ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетку работа трех типов кальцийтранспортирующих систем: кальциевый насос ( $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -АТФаза) в клеточной мембране и мембранах саркоплазматического ретикулума, система аккумуляции  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях, и в некоторых клетках,  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ -обменник, встроенный в цитоплазматическую мембрану.

- При снижении мембранного потенциала в митохондриях уменьшается поглощение  $\text{Ca}^{2+}$ . Снижение уровня АТФ в клетке приводит к выключению работы  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазы. Все это способствует накоплению кальция в цитоплазме.
- Увеличение концентрации  $\text{Na}^{+}$  в клетке вследствие угнетения натриевого насоса при недостатке АТФ приводит к выключению и  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ -обмена через клеточную мембрану.
- В результате всего этого происходит увеличение концентрации кальция в цитоплазме.



## **Увеличение концентрации кальция в цитоплазме приводит:**

- к активации большого числа кальцийзависимых ферментов (протеинкиназ, фосфолипаз, фосфодиэстеразы циклических нуклеатидов и др.),
- нарушениям в цитоскелете,
- активации сократительных структур,
- образованию нерастворимых включений кальция в матриксе митохондрий,
- повреждению внутриклеточных мембран и общей дезорганизации метаболизма.

***Морфологически это проявляется в замедлении броуновского движения различных включений внутри клетки (увеличение «вязкости протоплазмы»).***

- **Д. Выход метаболитов.**
- Увеличение проницаемости мембраны клеток и ухудшение работы ионных насосов приводит к тому, что компоненты цитоплазмы выходят в окружающую среду.
- Вышедшие из клеток вещества не безразличны для других клеток, тканей и органов.
- Например, среди веществ, выходящих из клеток, поврежденных в результате ишемии (нарушения кровотока), имеются полипептиды, обладающие способностью вызвать остановку сердца (ишемический токсин).

- **Е. Увеличение объема (набухание) клеток.**
- Все биологические мембраны хорошо проницаемы для воды.
- Как только в клетке начинают накапливаться новые ионы и молекулы, ее объем возрастает, поскольку вода входит внутрь.
- Выкачивание ионов мембранными насосами и обменниками сопровождается уменьшением объема за счет **самопроизвольного выхода избытка воды.**

- В нормальной клетке имеется избыточное по сравнению с окружающей средой количество белков, что приводило бы к появлению избыточного онкотического давления и увеличению объема клетки, если бы одновременно не происходило удаление (выкачивание) ионов натрия из клетки за счет работы  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ азы.
- Таким образом, живая клетка находится в состоянии динамического равновесия, при котором «протечка» клеточной мембраны компенсируется постоянной работой ионной помпы.
- При патологии может происходить либо увеличение ионной проницаемости клеточной мембраны (возрастание «протечки»), либо нарушение работы ионных насосов (например, при недостатке энергообеспечения).

- *Набухание клеток - процесс, далеко не безразличный для функционирования клеток и ткани в целом.*
- Первым результатом этого оказывается сдавливание кровеносных сосудов и затруднение кровообращения. Например, при ишемии происходит набухание клеток и последующее общее возобновление кровообращения не сразу и не всегда приводит к восстановлению жизнедеятельности ткани, потому что кровь не проникает в мелкие кровеносные сосуды, сдавленные набухшими клетками.
- То же происходит при трансплантации органов. Иногда применяется предварительное промывание пересаженного органа гипертоническим раствором, который восстанавливает прежний объем клеток и нормализует микроциркуляцию.

## **2.Нарушение структуры и функций митохондрий**

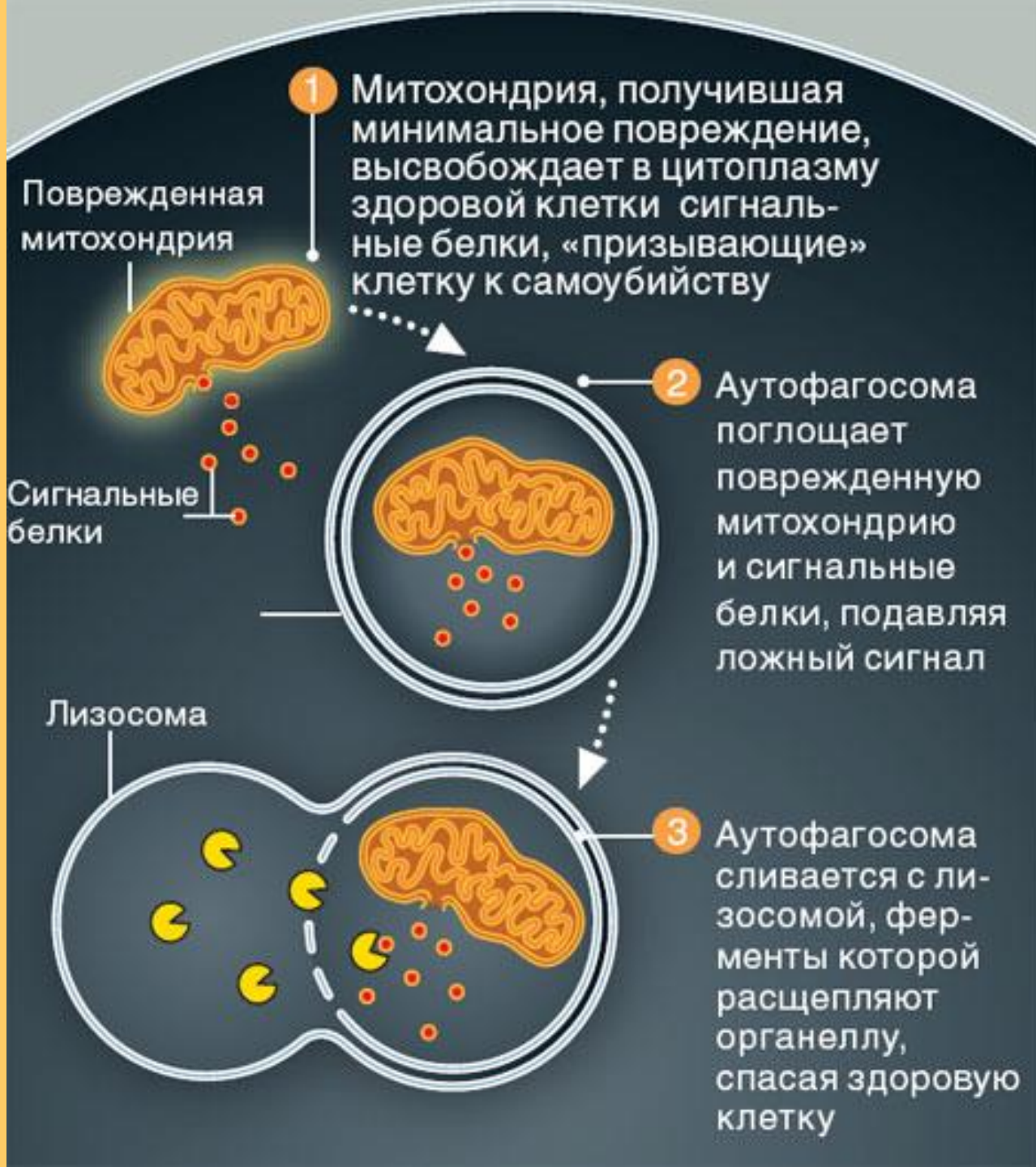
- Нарушение биоэнергетических функций митохондрий - одно из наиболее ранних проявлений повреждения клеток (20--60 мин).
- **А.Уменьшение скорости потребления кислорода митохондриями**, связанное с нарушением работы переносчиков электронов, наблюдается при действии многих токсических соединений, например, ионов тяжелых металлов, таких как ртуть или серебро, ряда гидрофобных соединений, различных производных углеводорода, при перекисном окислении липидов.
- Оно может быть также следствием набухания митохондрий и разрыва их наружных мембран, в результате чего из митохондрий выходит цитохром С, который является одним из переносчиков электрона по дыхательной цепи.

- Б.Увеличение проницаемости внутренней митохондриальной мембраны ведет к разобщению процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях при их повреждении.
- По теории Митчела энергия, высвобождаемая в цепи цитохромов, запасается как протонный градиент на мембране митохондрий и затем обратным потоком  $H^+$  синтезируется АТФ (АТФ-синтазой – обратной АТФазой).
- Разобщение окислительного фосфорилирования ведет к увеличению продукции тепла, а не АТФ.

- В. Параллельно разобщению окислительного фосфорилирования наблюдается потеря способности митохондрий к накоплению ионов кальция.
- Повреждение митохондрий приводит к падению разности потенциалов на митохондриальной мембране.
- Положительно заряженные ионы кальция, удерживаемые в матриксе электрическим полем, начинают выходить наружу из поврежденных митохондрий.

*Морфологическим признаком повреждения митохондрий является их набухание при большинстве повреждений из-за повышения проницаемости мембраны для всех ионов и детергентного эффекта жирных кислот, которые перестают расщепляться в митохондриях и омыляют мембрану.*





## 3.Ацидоз

- Любое повреждение клетки сопровождается ацидозом ее цитоплазмы (рН падает до 6 и ниже).
- **Первичный ацидоз** повреждения клеток следует отличать от **вторичного ацидоза** в воспаленной ткани, который возникает значительно позднее (спустя несколько часов) после нанесения повреждения.
- Первичный ацидоз повреждения - следствие накопления в клетке определенных продуктов метаболизма (например, молочной кислоты).
- Первичный ацидоз в поврежденной ткани возникает при действии различных повреждающих агентов: механического воздействия, действия химических агентов (например, горчичного масла), бактериальных токсинов (дизентерийная палочка, гемолитический стафилококк).
- Ацидоз повреждения возникает в тканях также при гипоксии.

## 4. Повреждение эндоплазматического ретикулума

- Синтез белков осуществляется на полисомах. Угнетение синтеза определенных белков, например синтеза гемоглобина при гипопластической анемии в клетках костного мозга, происходит на фоне уменьшения числа полисом и их распада на отдельные рибосомы.
- При токсических воздействиях на клетки происходит изменение конфигурации эндоплазматического ретикулума и связанных с ним рибосом.
- Типичные реакции: *набухание* и изменение конфигурации в клетке; *отсоединение рибосом* – от шероховатого ретикулума как результат энергодефицита ведет к снижению пластических процессов; *нарушение транспорта* синтезируемых белков → зернистая дистрофия клетки

## 5.Изменение активности ферментов и рецепторов

- В поврежденных клетках происходит выход в цитоплазму и активация ряда гидролитических ферментов, в норме заключенных в специальные фосфолипидные везикулы - **лизосомы**. **Лизосомы** содержат такие ферменты, как протеаза, рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза, кислая фосфатаза, гиалуронидаза и др.
- Различные повреждающие агенты- эндотоксины бактерий брюшнотифозной группы, мелкие неорганические частицы (двуокись кремния, двуокись титана, алмазная пыль), попадая в лизосомы, разрушают их.
- Активация лизосомальных ферментов может происходить не только под действием тех или иных специфических факторов, но и в результате ацидоза, характерного для неспецифической реакции клетки на повреждающее воздействие.
- Одним из процессов, вызывающих выход лизосомальных ферментов, является также активация пероксидации липидов в лизосомальных мембранах

## • НАРУШЕНИЯ РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА:

- *снижение (повышение) числа рецепторов,*
- *изменение их аффинитета,*
- *появление новых,*
- *нарушение обновления,*
- *нарушение передачи сигнала с рецепторов в клетку.*

**Пример 1**: семейная наследственная гиперхолестеринэмия (ранний атеросклероз и инфаркт) – следствие генетического дефекта рецепторов к ЛПОНП, что нарушает их нормальный метаболизм клетками (рецепторзависимый пиноцитоз) и ведет к физической инфильтрации сосудистой стенки.

**Пример 2**: инсульт ведет к гипоксии и гиперкомпенсаторному повышению глутаминовых рецепторов мозга, это повышает цГМФ и увеличивает резистентность к АФК, а также повышает синтез NO и улучшает периферическое кровоснабжение; но одновременно повышается вход  $Ca^{2+}$  в клетку что ведет к гиперактивации клетки и ее некробиозу, а избыток NO формирует токсические перекиси азота.

- **Пример 3**: нарушение работы ионных насосов изменяет мембранный потенциал (ведет к набуханию клеток из-за нарушения транспортных систем ионов) и изменяет  $\text{Ca}^{2+}$  -зависимые реакции.



**Пример 4:** нарушение вторичных мессенжеров. Сигнал в клетку передается через посредников – от них и от набора белков-эффекторов зависит специфичность реакции клетки той или иной ткани, а также особенности реакции внутри клеток (клетка разбита на ряд отделов, структурирована).

- G-БЕЛКИ: это ГТФ-связывающие белки мембраны, интегрируют сигнал от нескольких типов воздействия на клетку и передают его множеству эффекторных белков клетки.
- Псевдопаратиреоз при дефекте гена G-белков и снижении реакции клеток к паратиреоидным гормонам.
- Холерный токсин повышает активность G-белка и продукцию цАМФ в слизистой кишечника, что активирует потерю воды.

## **6. Повреждение генетического аппарата клетки**

- Типичные адаптивные реакции: при повреждении ДНК (облучение, температура, химические реакции, токсичны, ионы тяжелых металлов) → репарация ДНК с активацией белка p53 – замораживающего клеточный цикл в G1 фазе и при недостатке репарации активирующего апоптоз.
- Стандартно активируются также метилование хроматина (инактивация пластических процессов) и АДФ-рибозилирование хроматина что «склеивает» разрывы ДНК.

Типичен также аварийный синтез ряда белков:

- активация генов раннего ответа (c-fos, c-myc, c-jun) как подготовка к гипертрофии и пролиферации клетки),
- антионкогенов (p53 белок),
- генов маркеров старения и повреждения клеток (особый белок ионных каналов, к которому имеются аутоантитела, активирующие также фагоцитоз таких клеток);
- белки теплового шока (БТШ) – комплекс белков со свойствами детергентов и ограниченного протеолиза, защищающих клетку от самых различных агентов путем поддержания нативной конформации клеточных белков (антиденатурирующие эффекты) + блокада клеточного клеточного стресса (т.к. часть БТШ - это рецепторы стероидных гормонов ядра) + стабилизация цитоскелета + антигипоксическое действие + ограниченный протеолиз (малые БТШ = убиквитины) – способствуют протеолизу денатурированных белков и активируют p53 белок с активацией апоптоза клеток.

# ПОВРЕЖДЕНИЕ ЦИТОСКЕЛЕТА

- **ЦИТОСКЕЛЕТ:** микротрубочки (тубулин и пр.), актин (тонкие филаменты), миозин (толстые филаменты), промежуточные филаменты (десмин и др.).
- **Функции цитоскелета:** *каркас* клетки, *движение* (псевдоподии, реснички, фагоцитоз, хемотаксис), *питание* (пиноцитоз), движения внутриклеточных органоидов, гранул; *прикрепление* клетки к субстрату, обеспечивает передачу сигнала в клетку и упорядочивает движение веществ и сигналов в клетке (*структурирует* пространство в клетке).

- Примеры нарушения:

- синдром Чедиака-Хигаши – изменение полимеризации микротрубочек – снижение фагоцитоза – повышение гнойной инфекции.
- синдром «ленивых фагоцитов» при сахарном диабете (снижение энергообеспечения движения).
- гипоксия – энергетические паралич цитоскелета.
- вирусы часто имеют рецепторы к цитоскелету и образующие антитела к вирусам атакуют собственный цитоскелет (агрессивный хронический гепатит).
- *токсины* со спецификой к цитоскелету: цитохалазины, фаллоидин (бледная поганка), колхицин.
- агрегация микрофиламентов ведет к галинозу (избыток меди при болезни Вильсона, Врожденный цирроз печени, Сахарный диабет, тяжелое ожирение).
- онкогенез сопровождается фосфорилированием винкулина → отсоединение клеток от подложки и метастазирование опухолевых клеток.

# ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛИЗОСОМ (I-ичных и II-ичных (фаголизосом))

- Содержат гидролазы, АФК, имеют кислую среду.
- При ограниченных повреждениях клеток набухают, но непроницаемы.
- При некробиозе – распад лизосом, аутофагия органоидов (самоубийство клетки).
- **Типичная реакция:** *набухание* лизосом – реакция на гипоксию, ацидоз, голодание, облучение, дефицит и избыток вит. А, Е, Д, яды и др.
- Диагностика: накопление нейтрального красного.
- Кислая среда лизосом – *эффект протонной ловушки* – накопление слабоосновных соединений.
- *Мембранотропные токсины* для лизосом: афлотоксин (аутолиз клеток печени), спорофузарин (некроз миндалин и панцитопения).
- Стабилизаторы мембран лизосом – антибиотик фосфомицин.
- **Болезни накопления** (недопереваренные остатки и усиленный транспорт): липидов (гликолипиды – цереброзиды, сфинголипиды – для нервных клеток), гликогенозы печени (для мышц – миопатии).

## ***ОБРАТИМЫЕ И НЕОБРАТИМЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ КЛЕТКИ.***

- Увеличение внутриклеточного содержания кальция и нарушение биоэнергетических функций митохондрий являются общими признаками для клеток, поврежденных в результате действия самых различных неблагоприятных факторов.
- Эти два события - не простое следствие других изменений в поврежденных клетках: они лежат в *основе нарушения функций поврежденных клеток* и могут рассматриваться как *главные звенья* в цепи событий, приводящих к развитию *неспецифической реакции клеток на повреждение.*

- Первичными мишенями действия повреждающих агентов служат мембранные структуры клетки, в которых могут подвергаться разрушению липидный бислой, рецепторы, белковые переносчики ионов и молекул, ионные каналы, а также встроенные в мембраны ферменты, включая ионные насосы.
- Увеличение проницаемости мембран и подавление работы ионных насосов, непосредственно вызванные действием повреждающих факторов (токсические соединения, свободные радикалы и продукты липидной перекисидации, недостаток АТФ и т.д.), приводят к увеличению концентрации натрия и кальция в цитоплазме. Последнее сопровождается дисбалансом внутриклеточных сигнальных систем и активацией ряда ферментов, включая некоторые протеазы, эндонуклеазы и фосфолипазу А2.



- Гидролиз фосфолипидов мембран фосфолипазой приводит к дальнейшему нарушению барьерных свойств липидного бислоя, что вызывает еще больший рост уровня кальция в цитоплазме, набухание митохондрий и еще большее их повреждение.
- Параллельно повреждение мембран приводит к изменению функции рецепторов, ионных каналов, пиноцитоза, к выходу внутриклеточных метаболитов из клетки (синдром цитолиза) – АДФ, ионы, ферменты, субстраты клеток;
- Изменяется мембранный потенциал, что ведет к набуханию клеток из-за нарушения транспортных систем ионов, к баллонной дистрофии и сглаживанию градиентов ионов;
- Вход ионов  $Na^+$  и  $Ca^{2+}$  возрастает и активирует мембранную фосфолипазу А, изменяет синтез и баланс лейкотриенов – простагландинов. «Порочный круг» замыкается, и клетка может погибнуть.

# Стадии повреждения

- **Обратимая**: стадия повреждения и стадия восстановления.
- **МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ КЛЕТКИ К ПОВРЕЖДЕНИЮ**:
- Компенсация **энергетических** повреждений: переход на гликолитический синтез АТФ, активация ферментов транспорта энергии в клетке, повышение к.п.д. АТФаз; снижение функциональной активности и пластических процессов клетки.
- Защита **мембран и ферментов**: активация антиоксидантной системы, буферных систем (снижение внутриклеточного ацидоза в т.ч. транспорт  $H^+$  в митохондрии, саркоплазматический ретикулум и из клетки); повышение активности ферментов микросом (окисление, восстановление, деметилирование и пр. патогенных агентов); активация репарации мембранных структур клеток (белковый синтез репарации).

- Нормализация **водно-ионного баланса клетки**: активация ионных насосов (мембран клеток и саркоплазматического ретикулума, меньше - митохондрий), активация буферных систем.
- Репарация **генетических дефектов**: ферменты репарации ДНК.
- Компенсация процессов **регуляции** клетки: изменение числа рецепторов клеток, их чувствительности (аффинности), внутриклеточных посредников (G-белки, цАМФ, кальмодулин, Ca<sup>2+</sup>). Активация всех типов обратных связей ведет к аутоадаптации метаболизма.
- **Стереотипные приспособления клетки**: гипертрофия, гиперплазия, дисплазия, метаплазия (предрак), *белки теплового шока* (при гипертермии, гипоксии, интоксикациях, вирусном повреждении и пр. – интенсификация продукции БТШ (70 и 90 кДа массой)) – защита клетки от самых различных стрессов и патогенов.
- **Межклеточная адаптация**: нервные, эндокринные, цитокинные влияния, обмен метаболитами, ионами, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и пр.; изменение периферического кровообращения и лимфотока.

- **Необратимая**: паранекроз – некроз – аутолиз – фагоцитоз.
- Начальная стадия повреждения – **паранекроз**: характерны - внутриклеточный ацидоз, исчезновение гликогена, повышение сорбционных свойств цитоплазмы (красители), потеря K<sup>+</sup> и буферных систем клетки, набухание клетки и ее органелл.
- Затем развивается **некробиоз** – необратимая стадия (это острый процесс, для хронического – термин «патобиоз» - пример: индуративный отек) – кариопикноз с кариолизисом и кариорексисом, полное прекращение продукции энергии и гибель клетки.
- **Некроз** – это уже посмертные изменения клетки: *характерны* раннее разрушение мембраны, лизис цитоплазмы, набухание МХ, пикноз ядра с диффузной деградацией хроматина, прекращение синтеза белка, разрушение лизосом с клеточным ацидозом и аутоперевариванием, типичен воспалительный процесс и нарушение архитектоники тканей.



# АПОПТОЗ

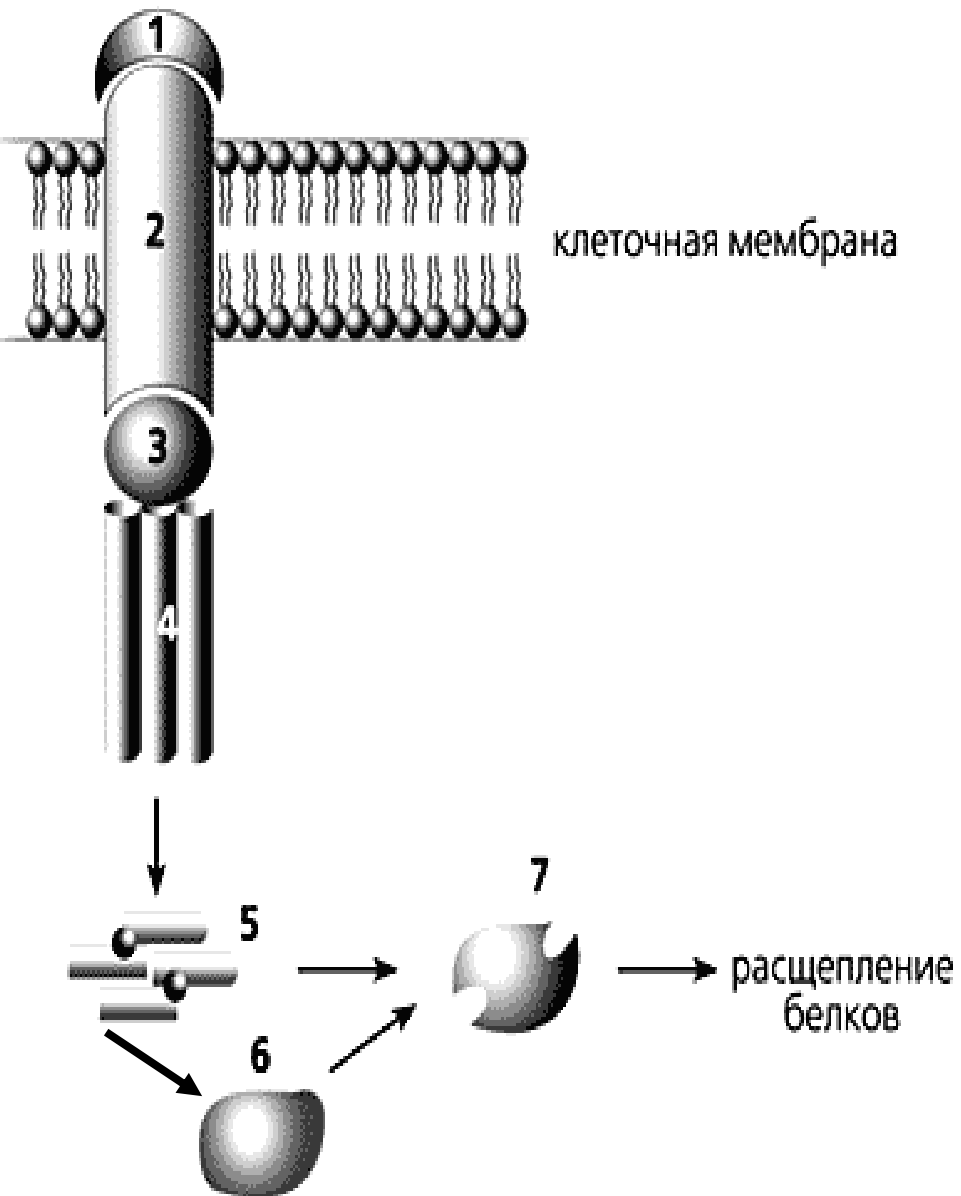
- **Развивается под действием**
- активации генной программы (в ходе эмбрионального развития и онтогенеза – тимус);
- при недостаточности трофических влияний на клетки;
- при патологических процессах самых различных – гипоксии (инфаркт миокарда в т.ч.);
- интоксикациях (септицемия);
- ионизирующем облучении и пр. (обычно при некомпенсируемости повреждений ДНК при облучении),
- при малигнизации клетки (важен ген p53 – «страж целостности генома»)

- По **запуску апоптоза** различают:
- **генный механизм** (активация генных программ в эмбриогенезе – рассасывание хвоста головастика);
- **рецепторный механизм**: глюкокортикоиды при апоптозе тимоцитов, рецепторы к фактору некроза опухолей (ФНО) и специфический апоптозный рецептор - Fas;
- **запуск при повреждении клетки** (повреждение ДНК или митохондрий, появление цитохрома-С в цитоплазме или повышение АФК).

- **В проведении сигнала к апоптозу** играют роль:
- $Ca^{2+}$  и кальмодулин саркоплазматического ретикулума и митохондрий;
- выход из митохондрий белка индуктора апоптоза хроматина;
- при любых формах апоптоза активируется синтез АФК ( $H_2O_2$  отводят роль передачи апоптического сигнала и внутри клетки и между клетками!).
- АФК важны для модификации мембранных липидов, что ведет к фагоцитозу апоптотных телец (**сигнал к фагоцитозу – появление на мембране фосфатидилсерина**).
- Важны также активирующиеся ферменты—**каспазы**, которые конвергируют различные сигналы к апоптозу внутри клетки. Каспазы активно синтезируются в клетке при индукции апоптоза.
- Известен цитохром С – зависимый апоптоз с реализацией эффекта через каспазу.
- В ходе апоптоза активируются гены – важнейший - p53 и снижается ингибитор апоптоза – Bcl-2.

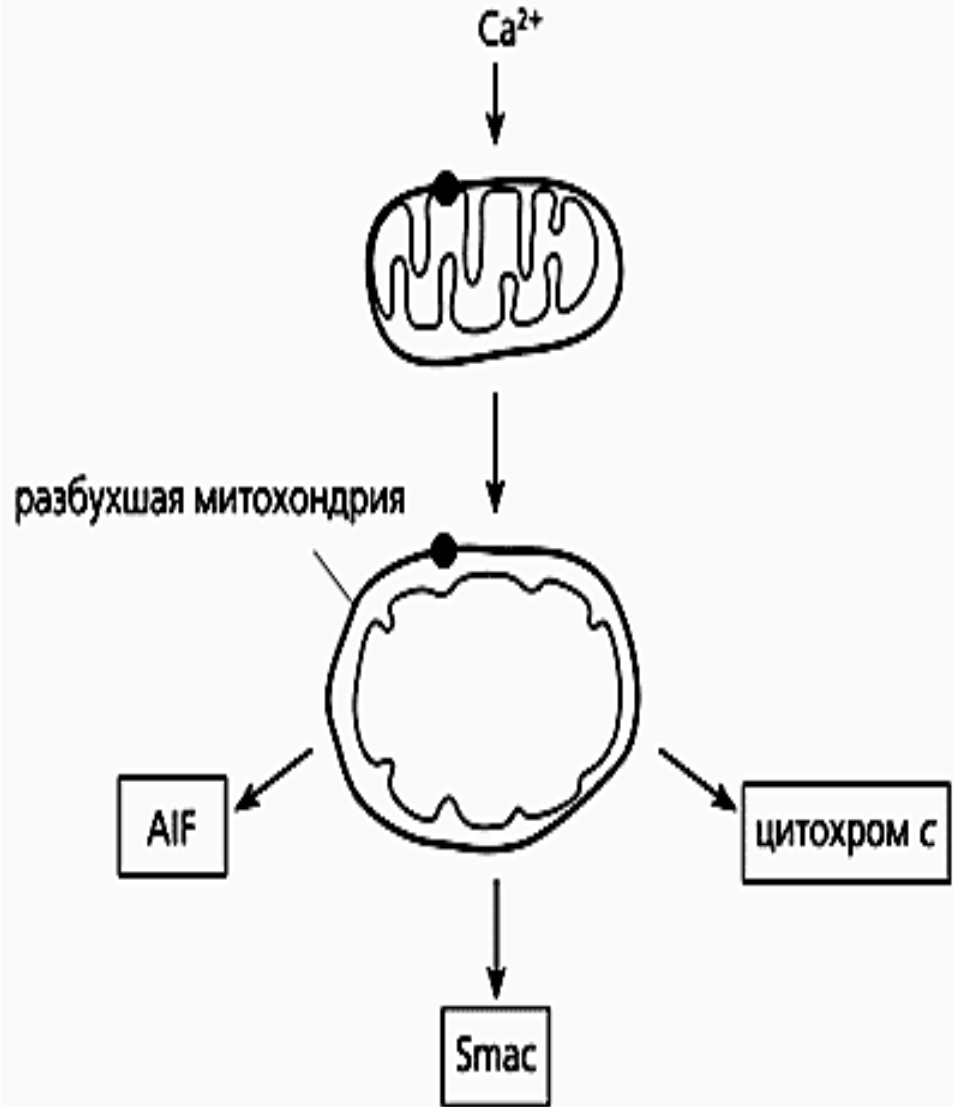


- Сигнальная молекула (1) связывается с “рецептором смерти” (2) и далее через адаптерный белок (3) - с прокаспазой-8 (4), после чего она превращается в активный фермент каспазу-8 (5). Она активирует в свою очередь прокаспазу-3 (6), которая, став действующим ферментом (7), расщепляет клеточные белки, и клетка погибает.



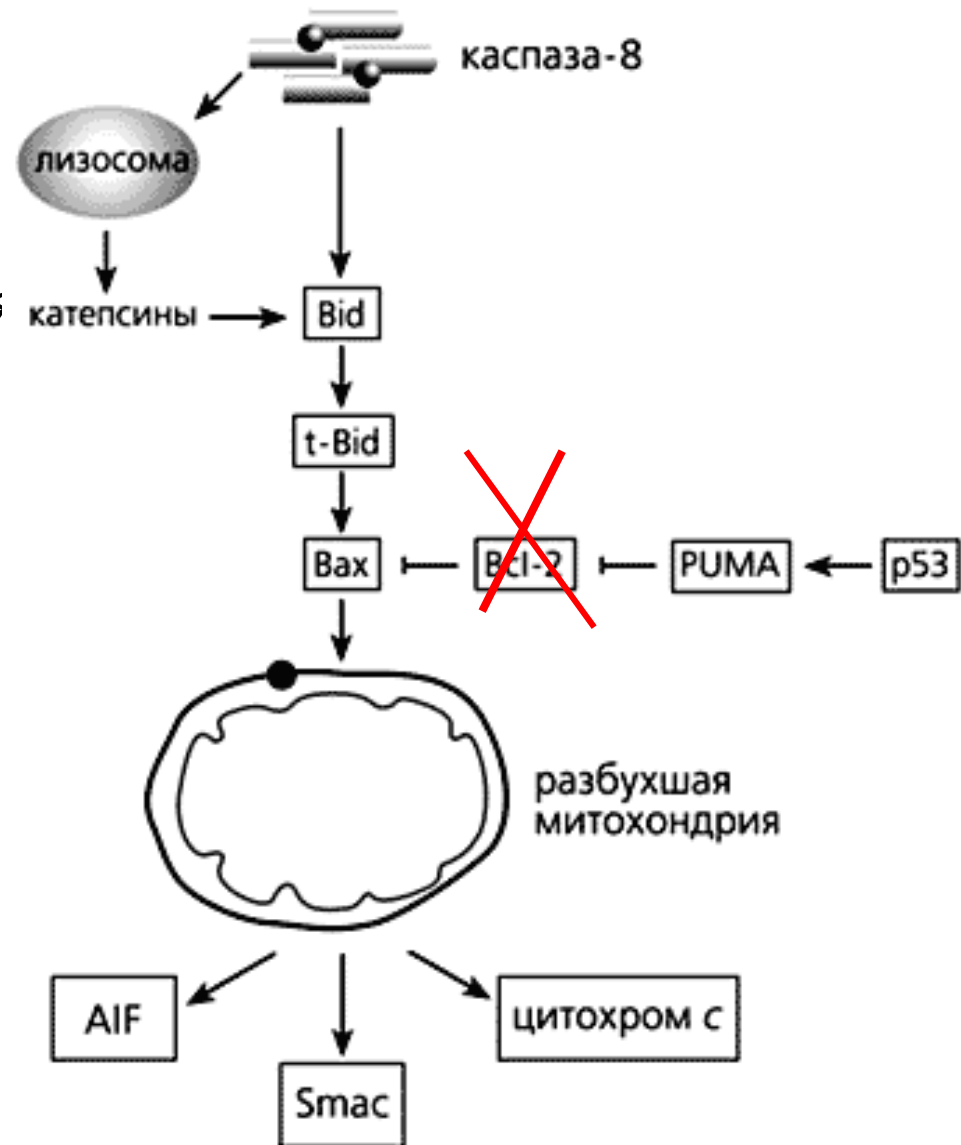
## Фрагмент схемы апоптоза, протекающего по митохондриальному пути.

- Под действием избытка ионов кальция митохондрия разбухает, через пору из нее выходит цитохром С и два белка - AIF и Smac. Первый белок индуцирует апоптоз в ядре, а второй активирует некоторые прокаспазы.

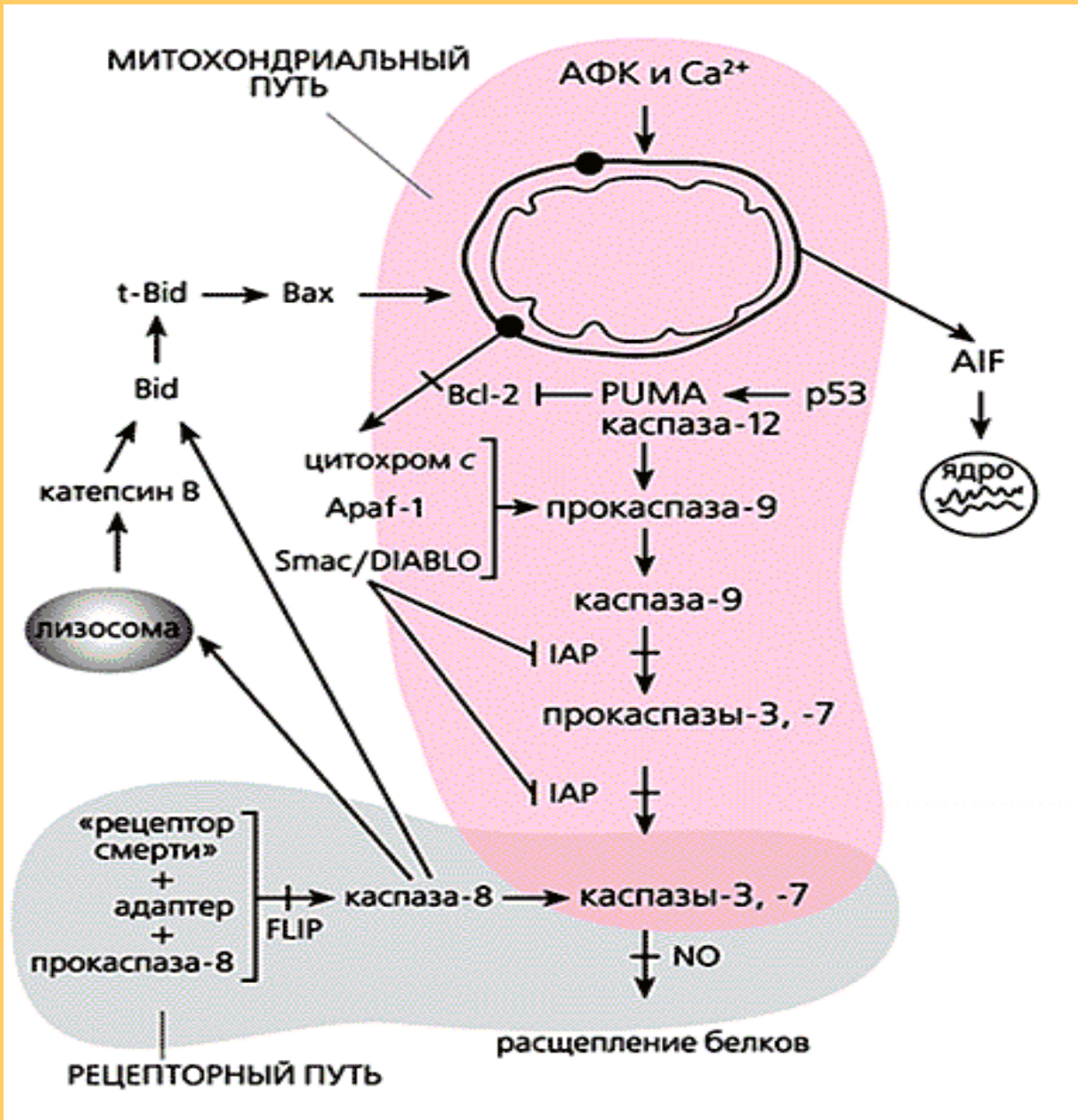


## Фрагмент схемы апоптоза, протекающего под контролем белков семейства Bcl-2, а также с участием p53.

- В запуске апоптоза, вызванного повреждениями ДНК, активацией онкогенов и гипоксией, принимает участие белок-53 (p53), взаимодействуя с Bax, стимулирует “рецепторы смерти” и апоптозные гены.
- p53 активирует PUMA (p53 upregulated modulator of Apoptosis), который затем связывает Bcl-2 и выводит из строя этот препятствующий апоптозу белок.
- Тем самым выход цитохрома c из митохондрий уже ничем не сдерживается.



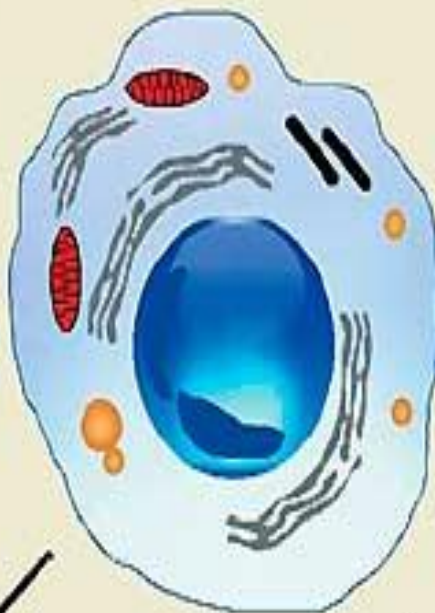
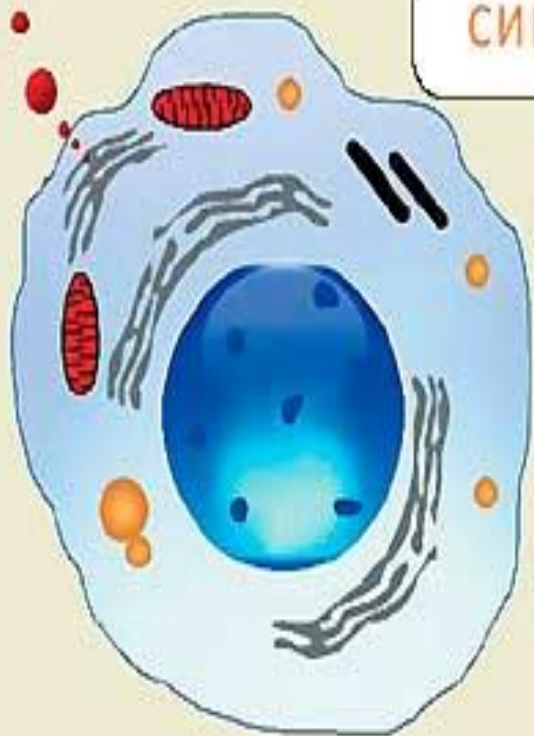
# Общая схема “классического” апоптоза млекопитающих.



- **Характерно для апоптоза:**
- мембрана сохраняется долго,
- цитоплазма конденсируется и фрагментируется,
- ядро конденсируется и хроматин «разрезается» эндонуклеазами между нуклеосомами на четкие части,
- обязательно активируется синтез белка – апоптоз это активный процесс активации генов;
- рано снижается потенциал митохондрий которые затем теряют кальций и набухают и высвобождают апоптический фактор - белок действующий на ядро клетки;
- процесс ведет к формированию апоптических плотных телец,
- они быстро (минуты, часы) фагоцитируются без воспаления, не меняя цитоархитектонику.

сигнал

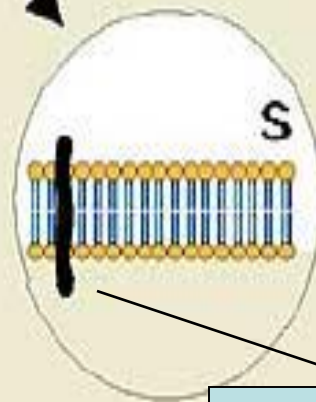
фагоцитоз



каспазы



нуклеазы



«Ешь меня»

фосфатидилсерин

## ЗАБОЛЕВАНИЯ НАРУШЕНИЯ АПОПТОЗА:

- **СНИЖЕНИЕ АПОПТОЗА:** ведет к опухолям, аутоиммунным заболеваниям, частым вирусным инфекциям, нейропролиферативным заболеваниям.
- **ПОВЫШЕНИЕ АПОПТОЗА** наблюдается при: нейродегенеративных заболеваниях (болезнь Альцгеймера, миотрофии); болезни крови крови (апластическая анемия, миелодиспластический синдром); ишемия (инфаркт, инсульт, реперфузионные поражения); токсические повреждения печени и почек, СПИД.

- Изучение воздействия разного рода повреждающих агентов на изолированные клетки (например, эритроциты), митохондрии, фосфолипидные везикулы (липосомы), плоские бислойные липидные мембраны и другие модельные объекты показало, что в конечном счете существует всего **четыре основных процесса**, которые непосредственно обуславливают нарушение целостности липидного бислоя в патологии (Владимиров Ю. А., 1973):
  - перекисное окисление липидов;
  - действие мембранных фосфолипаз;
  - механическое (осмотическое) растяжение мембраны;
  - адсорбция на липидном слое полиэлектролитов, включая некоторые белки и пептиды.



# Молекулярные механизмы увеличения проницаемости липидного слоя для ионов.

- При действии различных химических и физических факторов он становится проницаемым по одной из трех причин (или их комбинаций).
- 1. В липидном бислое (вязкость которого внутри близка вязкости растительного масла) появляется жирорастворимое вещество, способное связывать ионы. Механизм переноса ионов в этом случае напоминает перевоз пассажиров в лодке с одного берега на другой и называется «челночным», или переносом с помощью **подвижного переносчика**. Примером подвижного переносчика может служить ионофорный антибиотик валиномицин, который образует комплекс с ионами калия, растворимый в липидной фазе мембраны. К числу подвижных переносчиков относятся водорастворимые продукты перекисного окисления липидов, в присутствии которых, как оказалось, увеличивается проницаемость мембраны для ионов водорода.

- 2. В липидном слое появляются вещества, молекулы которых, собираясь вместе, образуют канал через мембрану. Сквозь такой канал ионы могут проходить с одной стороны мембраны на другую. Каналы образуются молекулами некоторых антибиотиков, например грамицидина А и полимиксина. Продукты перекисного окисления липидов также могут образовывать каналы в липидном слое, если в растворе есть ионы кальция. Продукты расщепления некоторых фосфолипидов фосфолипазой А<sub>2</sub> образуют каналы для одновалентных катионов.
- 3. Снижается электрическая прочность липидного слоя мембраны и ее участок разрушается электрическим током, который возникает под влиянием разности потенциалов, существующей на мембране. Такое явление носит название электрического пробоя.

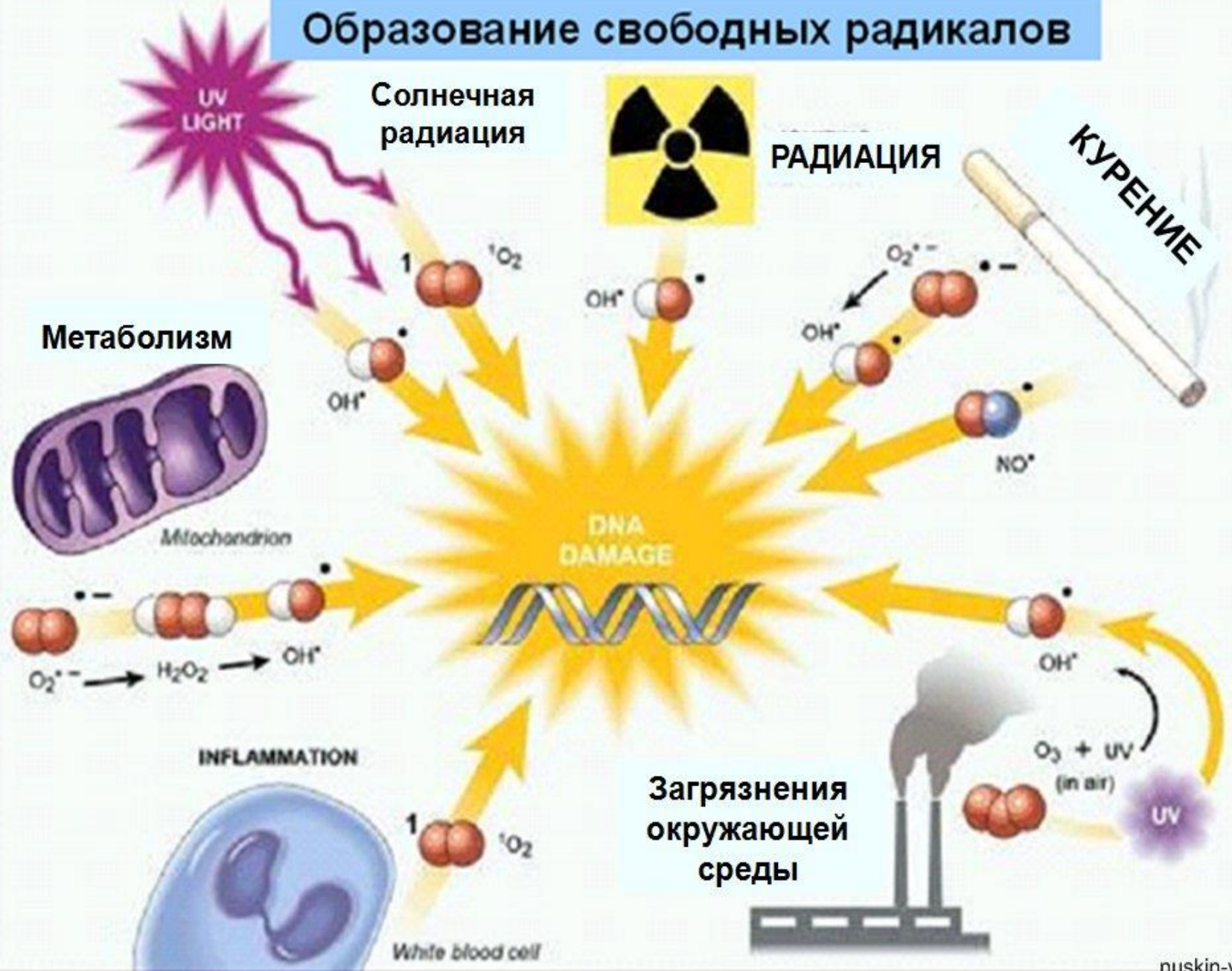
## ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ И ГИБЕЛИ КЛЕТКИ.

- Все радикалы, образующиеся в организме человека, можно разделить на природные и чужеродные. В свою очередь природные радикалы можно разделить на первичные, вторичные и третичные.
- **Первичные радикалы** - те радикалы, образование которых осуществляется при участии определенных ферментных систем. Прежде всего к ним относятся радикалы (семихиноны), образующиеся в реакциях таких переносчиков электронов, как коэнзим Q (обозначим радикал как Q) и флавопротеины. Два других радикала – супероксид и монооксид азота также выполняют полезные для организма функции.
- Из первичного радикала - супероксида, а также в результате других реакций в организме образуются весьма активные молекулярные соединения: перекись водорода, гипохлорит и гидроперекиси липидов.
- Под действием ионов металлов переменной валентности, в первую очередь  $Fe^{2+}$ , из этих веществ образуются **вторичные радикалы** (радикал гидроксила и радикалы липидов), которые оказывают разрушительное действие на клеточные структуры.

- Для защиты от повреждающего действия вторичных радикалов в организме используется большая группа веществ, называемых антиоксидантами, к числу которых принадлежат ловушки, или перехватчики свободных радикалов.
- Примером последних служат альфа-токоферол, тироксин, восстановленный убихинон (QH<sub>2</sub>) и женские стероидные гормоны.
- Реагируя с липидными радикалами, эти вещества сами превращаются в радикалы антиоксидантов, которые можно рассматривать как **третичные радикалы**.

- Наряду с этими радикалами, постоянно образующимися в том или ином количестве в клетках и тканях организма человека, разрушительное действие могут оказывать радикалы, появляющиеся при таких воздействиях, как ионизирующее излучение, ультрафиолетовое облучение или даже освещение интенсивным видимым светом, например светом лазера.
- Такие радикалы можно назвать **чужеродными**. К ним принадлежат также радикалы, образующиеся из попавших в организм посторонних соединений, ксенобиотиков, многие из которых оказывают токсическое действие именно благодаря свободным радикалам, образующимся при метаболизме этих соединений.

# Образование свободных радикалов



- **Инициирование** цепной реакции начинается с того, что в липидный слой мембран или липопротеинов внедряется свободный радикал.
- Чаще всего это **радикал гидроксила**. Будучи небольшой по размеру незаряженной частицей, он способен проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами (которые принято обозначать как LH), входящими в состав биологических мембран и липопротеинов плазмы крови. При этом образуются липидные радикалы:
- **$\text{HO} + \text{LH} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{L}$**
- **Липидный радикал (L)** вступает в реакцию с растворенным в среде молекулярным кислородом, при этом образуется новый свободный радикал - **радикал липоперекиси (LOO)**:
- **$\text{L} + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}$**
- Этот радикал атакует одну из соседних молекул фосфолипида с образованием **гидроперекиси** липида LOOH и нового радикала L':
- **$\text{LOO} + \text{LH} \rightarrow \text{LOOH} + \text{L}'$**
- **Чередование двух последних реакций как раз и представляет собой цепную реакцию перекисного окисления липидов.**

- Существенное ускорение пероксидации липидов наблюдается в присутствии небольших количеств ионов двухвалентного железа. В этом случае происходит разветвление цепей в результате взаимодействия  $Fe^{2+}$  с гидроперекисями липидов:
- **$Fe^{2+} + LOOH \rightarrow Fe^{3+} + HO + LO$**
- Образующиеся радикалы  $LO'$  инициируют новые цепи окисления липидов:
- **$LO + LH \rightarrow LOH + L$  ;  $L + O_2 \rightarrow LOO$**
- В биологических мембранах цепи могут состоять из десятка и более звеньев. Но в конце концов цепь обрывается в результате взаимодействия свободных радикалов с антиоксидантами ( $InH$ ) , ионами металлов переменной валентности (например, теми же  $Fe^{2+}$ ) или друг с другом:
- **$LOO + Fe^{2+} + H^+ \rightarrow LOOH + Fe^{3+}$**
- **$LOO + InH \longrightarrow In \bullet + LOOH$**
- **$LOO' + LOO' \longrightarrow$  молекулярные продукты**
- Последняя реакция особенно интересна, поскольку она сопровождается свечением (**хемилюминесценцией**). Интенсивность этой хемилюминесценции очень мала, поэтому ее иногда называют «сверхслабым свечением». Интенсивность свечения пропорциональна квадрату концентрации свободных радикалов в мембранах



## Повреждающее действие перекисидации липидов.

- *Повреждаются либо белковые структуры, либо липидный бислой в целом.*
- Наиболее чувствительны к перекисному окислению липидов сульфгидрильные, или тиоловые, группы (- SH) мембранных белков: ферментов, ионных каналов и насосов.
- В ходе окисления тиоловых групп образуются радикалы
- (- S'), которые затем либо взаимодействуют друг с другом с образованием дисульфидов (- SS-), либо связываются с кислородом с образованием сульфитов и сульфатов (- SO<sub>3</sub>, и - SO<sub>4</sub>).

- Большую роль в патологии клетки играет также **повреждение ионтранспортирующих ферментов** (например, Ca<sup>2+</sup>-, Mg<sup>2+</sup> -АТФазы), в активный центр которых входят тиоловые группы. Инактивация Ca<sup>2+</sup>-АТФазы приводит к замедлению откачивания из клетки ионов кальция и ускорению их «протечки» в клетку (где их концентрация меньше). Это вызывает рост уровня ионов кальция в цитоплазме и повреждение клеточных структур.
- **Окисление тиоловых групп мембранных белков приводит** к появлению дефектов в мембранах клеток и митохондрий. Под действием электрического поля через такие дефекты в клетки входят ионы натрия, а в митохондрии - ионы калия. В результате происходит увеличение осмотического давления внутри клеток и митохондрий и их набухание. Это приводит к еще большему повреждению мембранных структур.

- В последнее время ученые уделяют все большее внимание **взаимодействию АФК с нуклеиновыми кислотами в ядре и митохондриях**
- Наряду с белками и нуклеиновыми кислотами мишенью повреждающего действия перекисного окисления служит сам **липидный бислой**. Было показано, что продукты перекисного окисления липидов делают липидную фазу мембран проницаемой для ионов водорода и кальция. Это приводит к тому, что в митохондриях окисление и фосфорилирование разобщаются и клетка оказывается в условиях энергетического голода. Одновременно из митохондрий в цитоплазму выходят ионы кальция, которые повреждают клеточные структуры.

- Но, быть может, самый важный результат пероксидации - ***это уменьшение электрической стабильности липидного слоя***, Самопроизвольному росту пор, случайно зародившихся в липидном бислое, препятствуют силы поверхностного натяжения на границе раздела фаз: липидный слой мембраны - окружающий водный раствор. Нужно приложить довольно большую разность потенциалов к мембране, чтобы преодолеть эти силы и вызвать рост поры. Все вещества, снижающие поверхностное натяжение (детергенты), облегчают самопроизвольный рост пор и снижают величину потенциала пробоя. И продукты перекисного окисления липидов, и продукты гидролиза фосфолипидов фосфолипазами, и многие белки снижают поверхностное натяжение на границе раздела фаз и таким образом уменьшают электрическую прочность мембраны.

- Таким образом, может наступить момент, когда в мембране начнут формироваться и расти поры и она будет разрушена. Такое явление носит название ***электрического пробоя мембраны. Электрический пробой мембран оказывается универсальным механизмом нарушения барьерной функции мембран при патологии.*** Электрический пробой вызывает полную потерю мембраной ее барьерных функций.

Кислородная  
инициация  
СПОЛ

Образование  
свободных  
радикалов  
липидов

Образование  
перекисей  
липидов

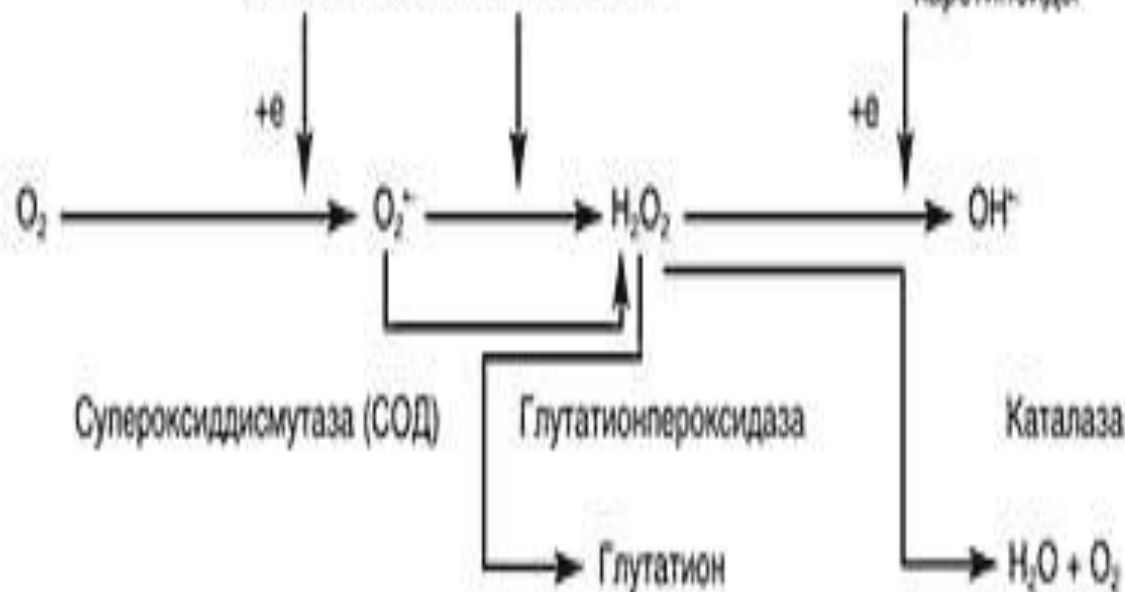


Звенья	Факторы	Механизмы действия
Антикислородное	Ретинол, каротиноиды, рибофлавин	Уменьшение содержания $O_2$ в клетке, например путём его повышенной утилизации, повышения сопряжения процессов окисления и фосфорилирования
Антирадикальное	СОД, токоферолы, маннитол	Перевод активных радикалов в «нерадикальные» соединения; «гашение» свободных радикалов органическими соединениями
Антиперекисное	Глутатионпероксидазы, каталаза, серотонин	Инактивация гидроперекисей липидов, например, при их восстановлении

**Естественные антиоксиданты**

**Гидрофильные:**  
аскорбат, глутатион, флавоноиды

**Липофильные:**  
убихинон, токоферол, витамин А,  
каротиноиды



**Ферменты**



# МЕХАНИЗМЫ ГИПОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ И ГИБЕЛИ КЛЕТКИ.

- Снижение аэробного окисления в митохондриях и **АТФ-энергодефицит**, активируется фосфофруктокиназа для компенсации - **активируется анаэробный гликолиз** (расходование гликогена клеток; одновременно стрессовая реакция организма, выделение катехоламинов и глюкокортикоидов, также активирует гликолиз) – идет накопление лактата – внутриклеточный **ацидоз** – тормозит фосфофруктокиназу (тормозит гликолиз и продукцию энергии!) - углубляется энергодефицит (**порочный круг при гипоксиях**).

- Блок наиболее энергоемких процессов ( $K^+$ - $Na^+$ АТФазы и сократительных систем клетки) ведет к **уменьшению электрического потенциала клеток** даже до обратного (с положительного на отрицательный!).
- Углубление гипоксии и энергодефицита ведет к входу в клетки  $Na^+$  - ***гипергидратация клеток*** (балонная дистрофия клеток) с денатурацией белков, коагуляцией и декомпозицией цитоплазмы, **накопление жирных кислот с  $Ca^{2+}$  и  $Na^+$  омыляет мембрану** и лизирует клетки; на глубоких стадиях некробиоза важен избыток ионов **кальция** – активация мембранных фосфолипаз и дезинтеграция мембран; затем идет **распад лизосом и деструкция митохондрий** – прекращение продукции энергии и аутолиз