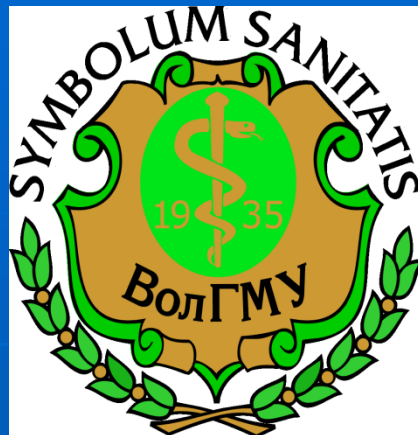


**Волгоградский
государственный
медицинский
университет**



***Кафедра
патологической
анатомии***

ЛЕКЦИЯ 1 (часть 3)

НЕКРОЗ. АПОПТОЗ.

Стоматологический факультет

Виды клеточной гибели:

- **Апоптоз** — генетически контролируемая клеточная гибель, обусловленная воздействием на клетку ...
- **Некроз** — генетически не контролируемая гибель клетки под влиянием патогенных факторов
- **Конечное дифференцирование** — генетически обусловленная гибель клетки

Механизмы гибели клетки



Некроз

- Гибель клеток и тканей в живом организме

Этиология некроза

1. Механические факторы;
2. Термические факторы;
3. Электротермические факторы;
4. Химические факторы (в т.ч. ферментные);
5. Лучевые факторы (и/и, СВЧ-поля, УФ-лучи);
6. Гипоксические факторы (циркуляторная, тканевая, гемическая и др. гипоксия);
7. Токсические факторы;
8. Вирусные факторы (РНК-вирусы);
9. Иммунные факторы (гуморальные факторы, иммунокомпетентные клетки).

Условия возникновения некроза

1. Экстремальный характер воздействия экзогенных или эндогенных факторов.
2. Низкое содержание энергетических и питательных субстратов в клетках.
3. Значительное функциональное напряжение ткани в момент экстремального воздействия.

Механизмы развития некроза

Травматический некроз

- Возникает при преобразовании кинетической энергии повреждающего предмета (ударной волны) в механическую;
- Поглощенная энергия, а следовательно, и объем некротизированной ткани тем выше, чем больше кинетическая энергия и площадь контакта предмета с тканью;
- Также имеет значение и повреждение кровеносных сосудов с развитием гипоксического повреждения ткани.

Механизмы развития некроза

Термический некроз

- Высокая температура -> ожог - денатурация белка (ферментов) – необратимое угнетение обмена веществ – гибель клетки;
- Низкая температура -> отморожение – циркуляторная гипоксия вследствие резкого местного повышения вязкости крови и замедления кровотока + разрушение ткани вследствие разрыва кристаллами льда.

Механизмы развития некроза

Некроз в результате воздействия электрическим током

- Преобразование электрической энергии в тепловую (при прохождении тока через ткани) – электроожог;

Некроз в результате воздействия химических веществ

1. Термическое действие тепловой энергии, выделяющейся при химической реакции;
2. Обезвоживание ткани (т.к. кислоты и щелочи – гипертонические растворы);
3. Коагуляция белка под действием ионов H^+ концентрированных кислот;
4. Растворение белков и омыление жиров концентрированными щелочами;
5. Повреждающее действие ферментов – протеолиз.

Механизмы развития некроза

Некроз в результате воздействия ионизирующего излучения

(в меньшей степени – ультрафиолетовых лучей)

1. Активация перекисного окисления липидов => образование свободных липидных радикалов + молекулы кислорода => образование липидных пероксидных радикалов => воздействие радикалов на фосфолипиды => разрушение клеточных мембран и некроз клетки;
2. Образование дисульфидных мостиков $S=S$ между белками клеточной мембраны => образование патологических ионных каналов в цитолемме + агрегация белков цитолеммы => разрывы цитолеммы;
3. Взаимодействие с молекулами ДНК => угнетение репликации ДНК.

Механизмы развития некроза

Некроз в результате воздействия СВЧ-поля

- СВЧ-поле – колебания клеточных структур с сверхвысокой частотой – преобразование этих колебаний в тепловую энергию => коагуляционный некроз.

Некроз в результате воздействия токсинов

- Результат блокады химическими веществами основных звеньев метаболизма (гликолиза, цикла лимонной кислоты, окислительного фосфорилирования на внутренних мембранах митохондрий)

Механизмы развития некроза

Некроз в результате воздействия гипоксии

- Гипоксия – набухание митохондрий и вакуолизация эндоплазматического ретикулума – открепление от мембран полирибосом и их диссоциация – прекращение синтеза белка – прекращение возобновления ферментов – прекращение метаболизма;
- Набухание ядра в результате действия ионных насосов – разрыв кариолеммы – перетекание части кариоплазмы в цитозоль – конденсация хроматина в глыбки, сморщивание ядра (кариопикноз) – распад ядра на фрагменты (кариорексис) + разрушение оболочек лизосом => расплавление остатков органелл и ядра ферментами лизосом (кариолизис).

Механизмы развития некроза

Некроз в результате воздействия вирусов

1. РНК-вирусы – захват РНК-вируса лизосомой;
2. растворение белковой оболочки РНК-вируса ферментами лизосомы;
3. высвобождение вирусной РНК, на основе которой – синтез белков из аминокислот клетки по программе вируса;
4. встраивание новообразованных белков в цитолемму;
5. образование в цитолемме патологических пор;
6. выход из клетки через поры ионов K^+ и проникновение в клетку ионов Na^+ и воды;
7. набухание клетки – баллонная дистрофия и некроз.

Механизмы развития некроза

Некроз в результате воздействия иммунных факторов

1. При паразитировании в клетке ДНК-вирусов, вырабатывающих белки по своей генетической программе – экспрессия белков на цитолемме;
2. Метаболизм в клетке некоторых лекарственных или токсических веществ – образование чужеродных в антигенном отношении соединений;
3. Воздействие на клетку некоторых физических факторов – изменение структур белков;
4. Генетическая мутация.

Механизмы развития некроза

Некроз в результате воздействия иммунных факторов

- После (1-4) – клетка чужеродна => образование антител к антигенам измененной клетки => фиксация антител на поверхности клетки => образование комплекса антиген-антитело + комплемент => гибель клетки по одному из 2-х путей:
 1. Запуск каскада комплемента => преобразование C_3 -фракции комплемента во фракцию C_9 => иммунный комплекс приобретает свойства «мембраноатакующего комплекса» => повреждение цитолеммы с образованием цилиндрических пор => выход из клетки ионов K^+ и проникновение в клетку ионов Na^+ и воды => набухание клетки => баллонная дистрофия и некроз (массивный некроз гепатоцитов при молниеносных формах вирусного гепатита В).
 2. Каскад комплемента не запускается => распознавание клетки Т-киллерами => активация апоптоза либо выделение перфоринов, нарушающих целостность клеточной мембраны (разрушение эндотелия в сосудах пересаженного органа при реакции отторжения трансплантата)

МОРФОЛОГИЯ НЕКРОЗА: изменения ядра

- **Кариопикноз:** сморщивание и уплотнение ядер, конденсация хроматина и гиперхромия.
- При электронно-микроскопическом исследовании:
 - инвагинация ядерной оболочки, ее разрывы и отслойка,
 - гомогенизация кариоплазмы,
 - агрегация хроматина,
 - повышение электронной плотности,
- **Кариорексис:** вначале - образование глыбок хроматина разной величины, которые часто располагаются по периферии ядра, а затем - фрагментация и распад ядра на глыбки.
- **Кариолизис:** - растворение, исчезновение хроматина, понижение адсорбции красителей, гипохромия.
При электронно-микроскопическом исследовании: отек, утолщение ядерной оболочки, отек и просветление нуклеоплазмы, перераспределение хроматина и выход его в цитоплазму.

МОРФОЛОГИЯ НЕКРОЗА:

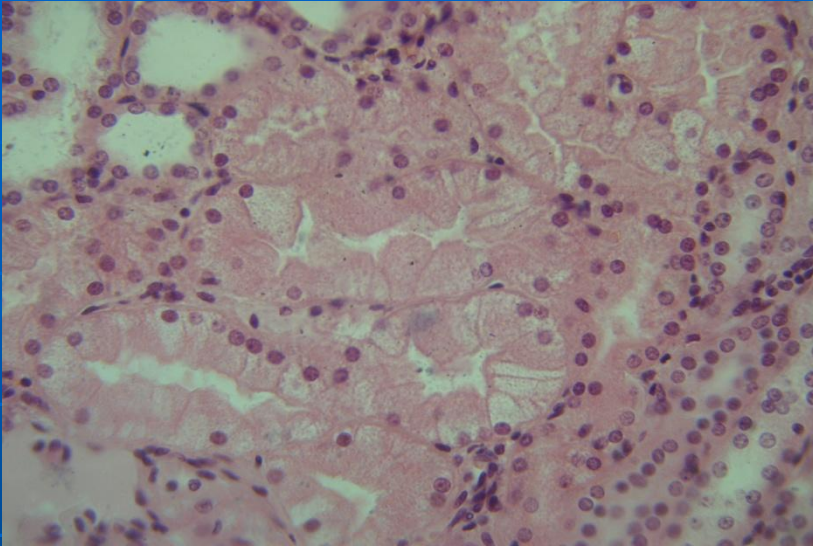
изменения цитоплазмы

1. коагуляция в коллоидных системах с образованием агрегатов (флокул, хлопьев);
 2. повышение тинкториальных свойств клеток (эозинофилия, усиление реакции на SH-группы, пиронинофилия и т.д.),
 3. отек,
 4. Вакуолизация;
 5. распад органелл с образованием детрита.
- Погибшие клетки теряют контакты друг с другом, а затем распадаются и фагоцитируются макрофагами.
 - При некрозе клеток повреждаются их специализированные структуры.

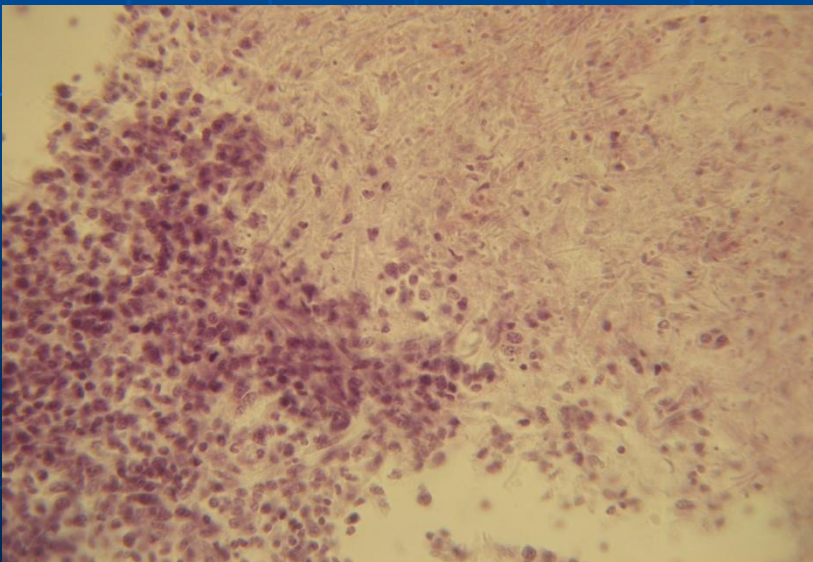
Некроз органа, помимо клеточных изменений включает:

- деструкцию сосудов, нервных волокон и стромальных элементов,
- а также комплекс регенераторный процессов разного уровня.

Морфология некроза



- *Кариолизис эпителия канальцев почки*



- *Некроз лимфоидной ткани миндаины при скарлатине*

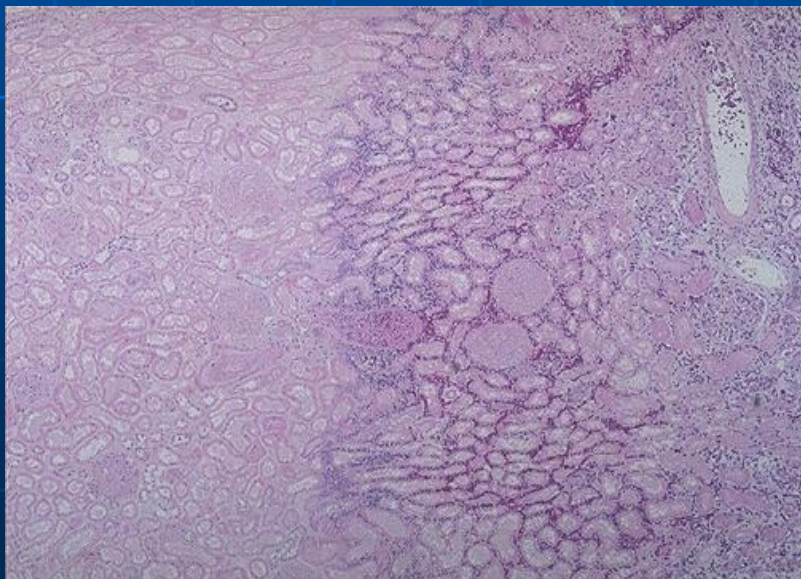
Морфология некроза



- Зона некроза – реактивное воспаление (демаркационная линия) – неизменная ткань.

Демаркационное воспаление:

- Вид красной полосы полнокровия с желтой каемкой, прилегающей непосредственно к некротизированной ткани;
- Скопления лейкоцитов.



Классификация некроза по этиологическому фактору

1. Травматический некроз
2. Токсический некроз
3. Трофоневротический некроз
4. Аллергический некроз
5. Сосудистый некроз

Классификация некроза по механизму развития

```
graph TD; A[Классификация некроза по механизму развития] --> B[Прямой некроз]; A --> C[Непрямой некроз];
```

- **Прямой некроз**
(травматический, токсический)
- **Непрямой некроз**
(трофоневротический, аллергический, сосудистый)

Клинико-морфологические формы некроза

1. Коагуляционный некроз
2. Колликвационный некроз
3. Жировой некроз
4. Гангрена
5. Секвестр
6. Инфаркт

Коагуляционный (сухой) некроз

- характерно преобладание процессов уплотнения, свертывания и обезвоживания, что придает тканям сухость.
- развивается чаще в богатых белками тканях и органах (миокард, поперечно-полосатые мышцы, печень, почки, селезенка).

1) Казеозный (творожистый) некроз (туберкулез, сифилис)

- ткань теряет структуру и состоит из аморфного мелкозернистого материала, в который почти не проникают лейкоциты, но часто откладываются соли кальция.

- Сухие, крошащиеся массы желтовато-сероватого цвета, напоминающие творог.

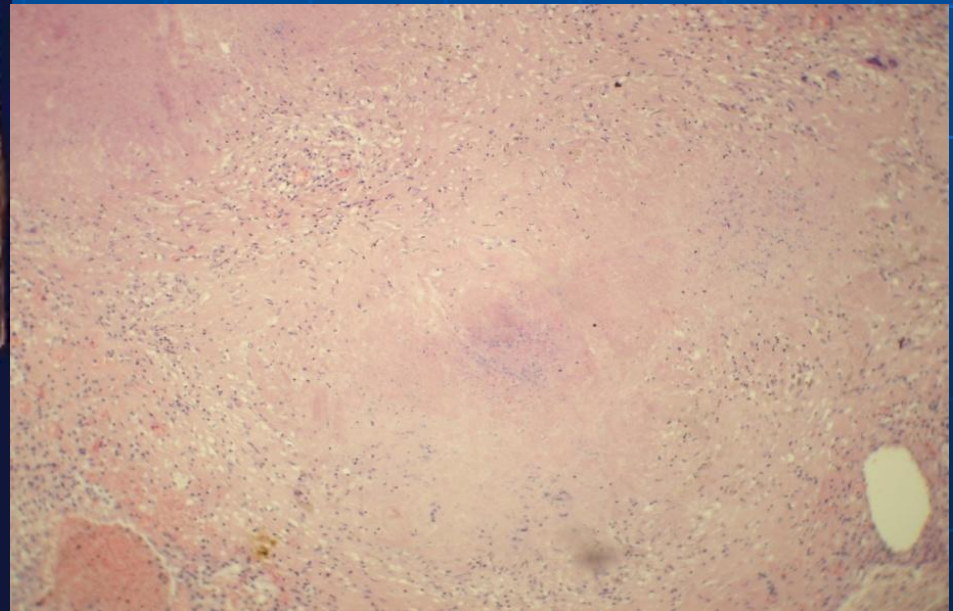
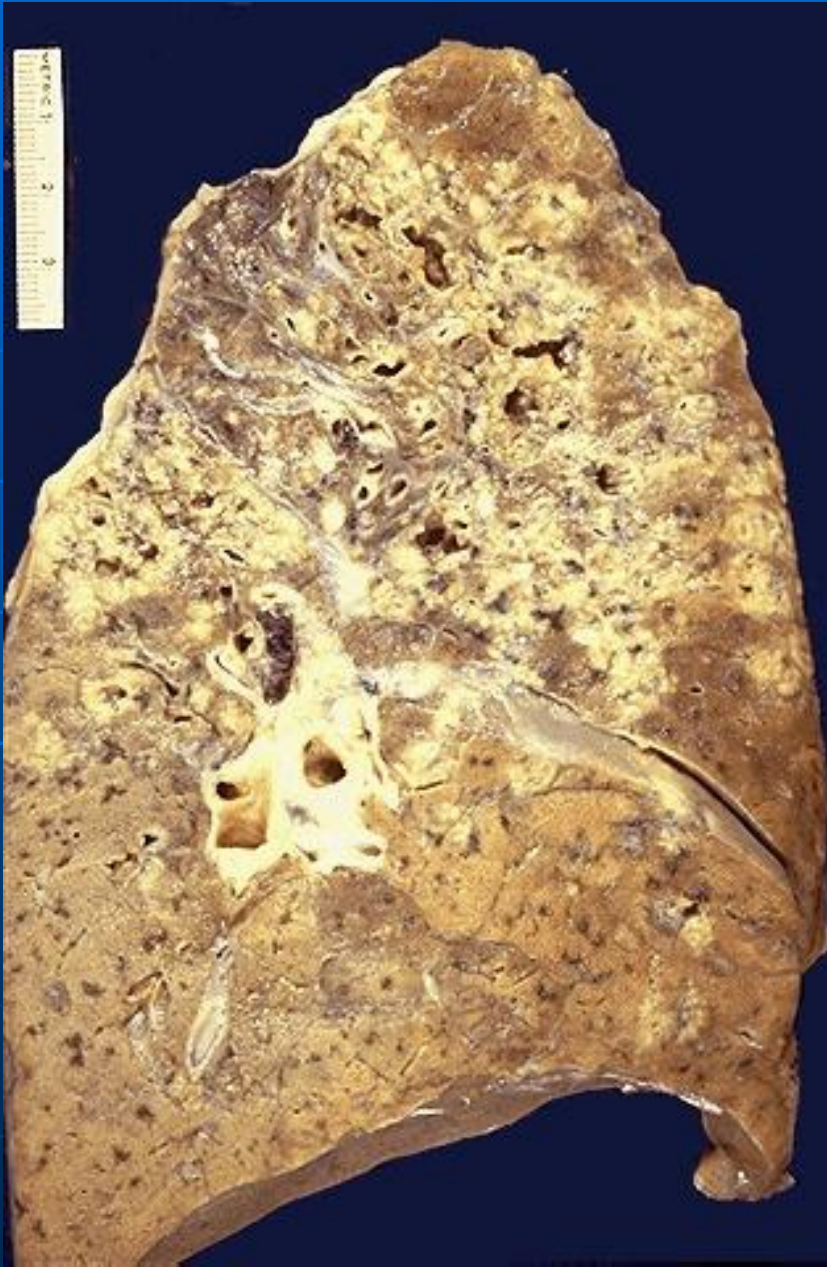
2) Фибриноидный некроз - характерен распад волокон и основного вещества соединительной ткани,

- выражает морфологическую картину - распад ткани и пропитывание ее белками (фибрин) и гликозаминогликанами.

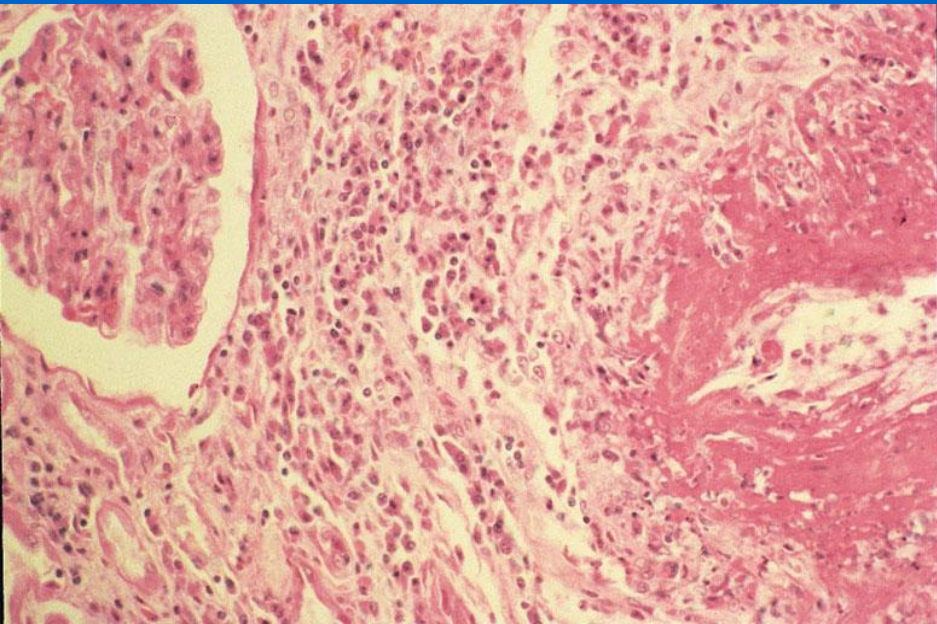
3) Ценкеровский (восковидный) некроз развивается в мышцах при некоторых инфекционных заболеваниях.

Коагуляционный (сухой) некроз

- *Казеозная пневмония*

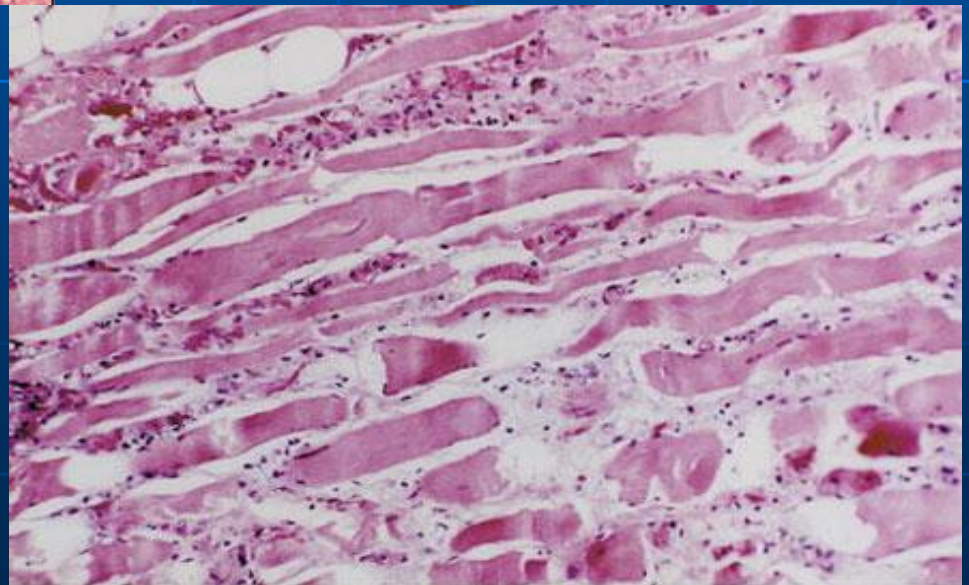


Коагуляционный (сухой) некроз



- Фибриноидный некроз
стенки артерии при
узелковом периартериите

- Ценкеровский некроз



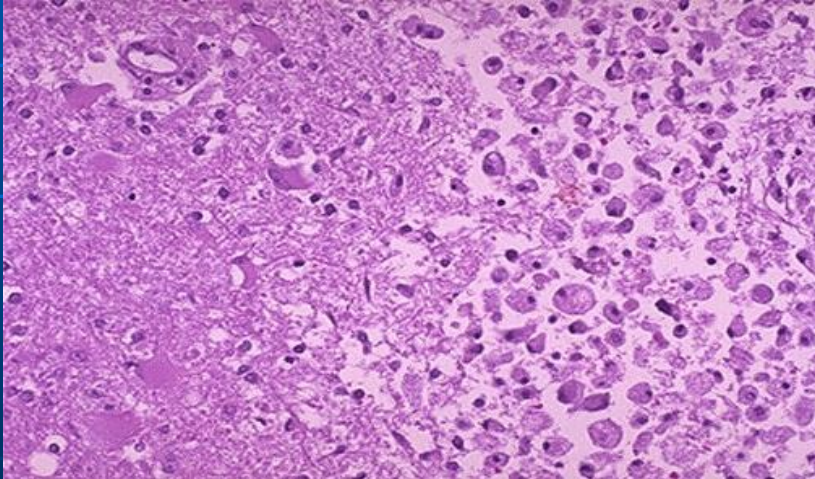
Колликвационный (влажный) некроз

- развивается в богатых влагой тканях (головной мозг).
- Характерно: разжижение, размягчение, аутолитический распад и превращение ткани в мелкозернистую массу с образованием кист и полостей.
- **Мацерация плода** – влажное размягчение тканей плода при его гибели в полости матки.
- **Вторичное размягчение (маляция)** - в очагах коагуляционного некроза (миомаляция, хондромалиция, остеомалиция и т.д.) – вторичная колликвация.

Колликвационный (влажный) некроз



- Ишемический инфаркт мозга;



- Мацерация плода.



Жировой некроз

```
graph TD; A[Жировой некроз] --> B[1. Ферментный жировой некроз]; A --> C[2. Неферментный жировой некроз];
```

**1. Ферментный
жировой некроз**

**2. Неферментный
жировой некроз**

Жировой некроз:

1. Ферментный жировой некроз

- острый панкреатит,
- повреждения поджелудочной железы,
- панкреатические ферменты из протоков -> в окружающие ткани.
- Воздействие панкреатическая липаза на триглицериды в жировых клетках,
- расщепление их на глицерин и жирные кислоты, которые + плазменные ионы кальция => мыла кальция.
- При этом в жировой ткани, окружающей поджелудочную железу - непрозрачные, белые (как мел) бляшки и узелки (очаги стеатонекроза).
- возможно попадание липазы в кровоток - последующее распространение липаз - это причина жирового некроза во многих участках организма.
- Наиболее часто повреждаются подкожная жировая клетчатка и костный мозг.

Жировой некроз:

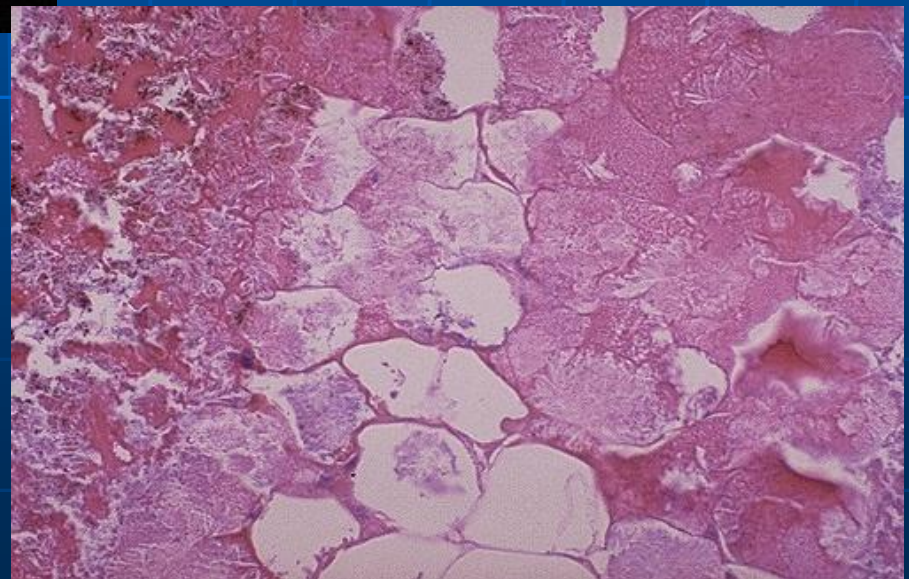
2. Неферментный жировой некроз:

- в молочной железе, подкожной жировой ткани и в брюшной полости.
- Большинство пациентов имеют в анамнезе травмы.
- = травматический жировой некроз (даже если травма не определена как основная причина).
- вызывает воспалительный ответ, характеризуемый наличием многочисленных макрофагов с пенистой цитоплазмой, нейтрофилов и лимфоцитов.
- Затем - фиброзирование, при этом данный процесс бывает трудно отличить от опухоли.

Жировой некроз



- Жировой некроз поджелудочной железы;
- Расщепление нейтрального жира – образование жирных кислот и мыл



Гангрена

- вид некроза тканей, при котором мертвые ткани, соприкасаясь с окружающей средой, приобретают серовато-бурый или даже черный цвет (образование сернистого железа из гемоглобина).
- В зависимости от наличия микроорганизмов, расстройств кровообращения гангрена бывает **сухой** или **влажной**.
- Локализация: кишечник, легкие, матка, конечности.
- **Пролежень** – разновидность гангрены, образуется в поверхностных участках тела у тяжело больных, особенно в местах давления.

Гангрена



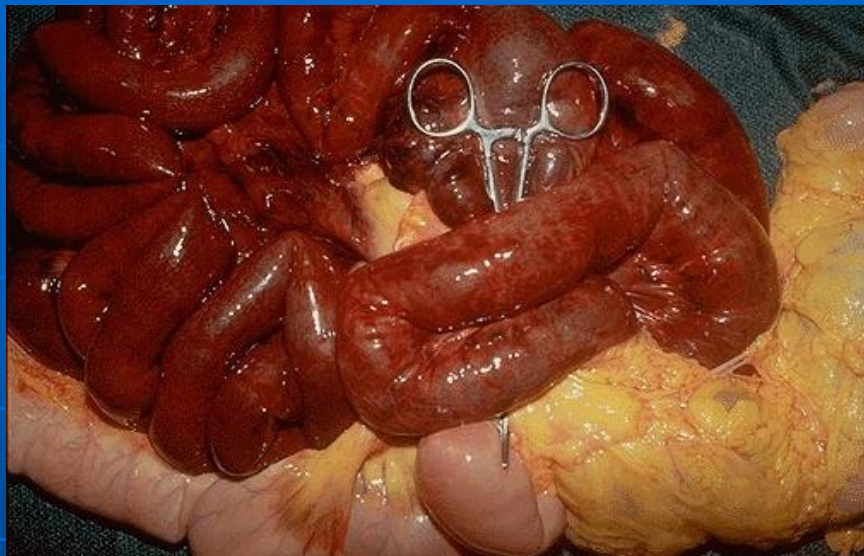
Сухая гангрена

- Развивается когда участки омертвения, расположенные на поверхности, отдают в окружающую атмосферу влагу, высыхают и становятся плотными.
- Локализация – конечности (атеросклероз, диабетическая ангиопатия, спазм артерий вследствие хронических интоксикаций).
- **Мумификация** пупочного канатика у новорожденного; плода при неразвивающейся беременности.

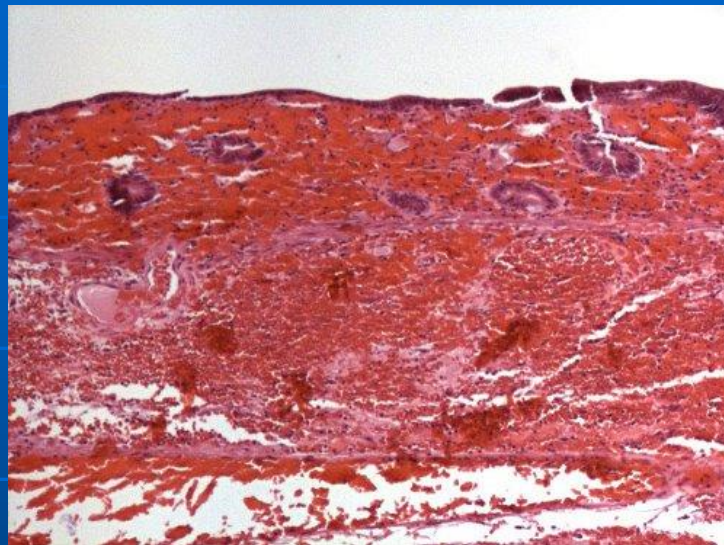
Влажная гангрена

- Омертвление, осложненное внедрением в мертвую ткань микроорганизмов, вызывающих гнилостное разложение, гниение мертвых масс;
- Стафилококки, стрептококки, кишечная палочка, различные спирохеты (напр. Венсана);
- Конечности при отморожении, пролежни, нома (мягкие ткани щеки); легкие, кишечник, матка,
- Как исход различных воспалительных процессов (зева, легких, пульпы зуба);
- Макро-: мягкие распадающиеся массы грязно-серого (черного) цвета со зловонным запахом.

Гангрена



- Гангрена кишки



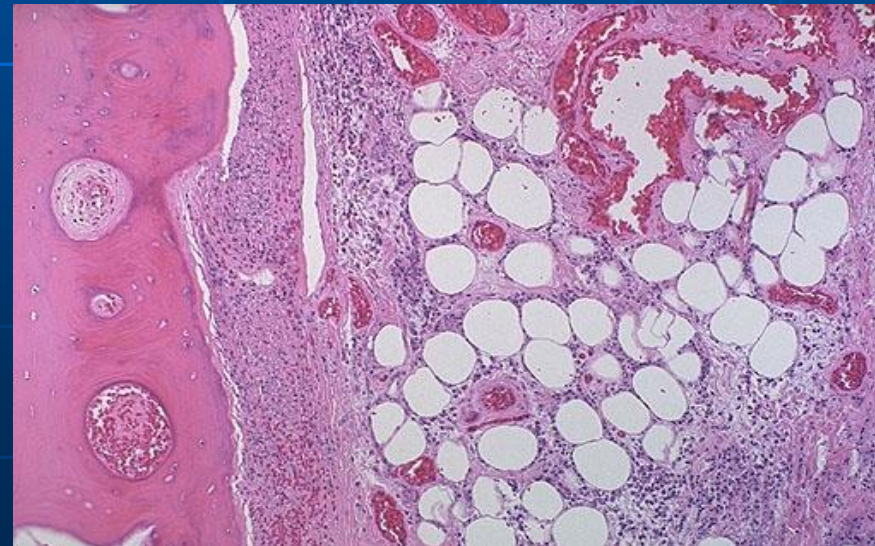
- Гангрена пальцев стопы



Гангрена



- Влажная гангрена нижней конечности



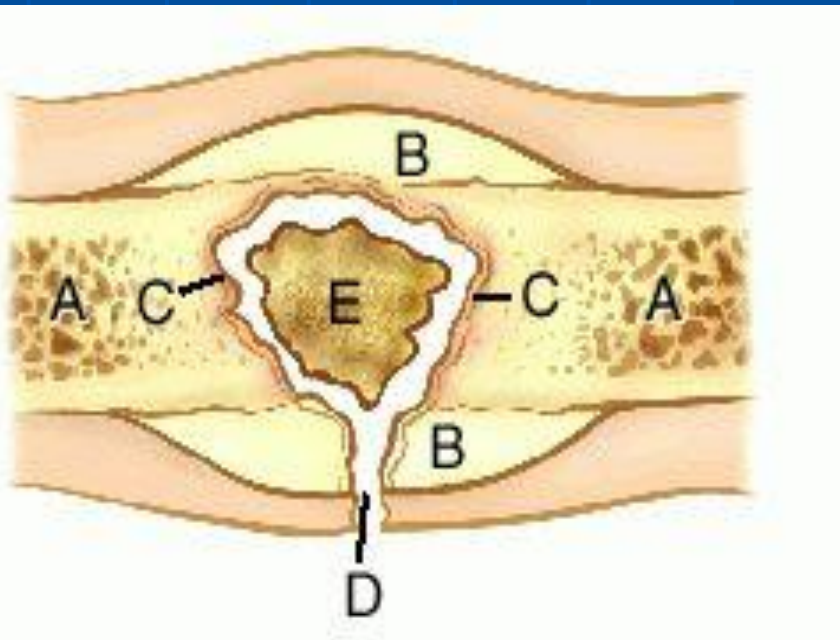
Пролежень



Секвестр



- омертвевший участок, отторгающийся или отделившийся от живых тканей, и не подвергающийся организации.
- Секвестры обычно - в костях (остеомиелит, переломы, туберкулез), реже в других органах.



А – окружающая кость,
В – костная мозоль,
С – секвестральная капсула,
D – свищевой ход,
Е – секвестр.

Инфаркт

- Это некроз, возникающий в результате прекращения кровоснабжения участка ткани или органа. Инфаркт называют также циркуляторным некрозом.

Необходимые условия для возникновения инфаркта:

- 1) блокада кровотока в магистральном артериальном стволе;
- 2) недостаточность обеспечения кровоснабжения за счет анастомозов и коллатералей вследствие их анатомического недоразвития, вовлечения в патологический процесс или функционального выключения из кровообращения;
- 3) Значительная гипертрофия или гиперплазия ткани (несоответствие емкости кровеносных сосудов увеличенному объему паренхимы);
- 4) Интенсивное функционирование органа с возникновением относительной недостаточности кровообращения в нем;
- 5) анемия.

Инфаркт: механизмы возникновения

1. Тромбоз.
2. Обтурация артерии вследствие разрыва и отслойки покрышки атеросклеротической бляшки.
3. Кровоизлияние в толщу атеросклеротической бляшки.
4. Эмболия с закупоркой сосуда тромботическими и другими массами.
5. Сдавление извне сосуда (опухолью, лигатурой).
6. Разрыв или интраоперационное пересечение сосуда.
7. Перекрут, перегиб органа (и соответственно его сосудов – при петлеобразовании, инвагинации, деформации спайкой, перекрут ножки опухоли).
8. Ущемление органа (при ущемленной грыже).
9. Перерастяжение полого органа (некроз стенки желудка при остром его расширении – при некоторых психических заболеваниях).
10. Стойкий спазм артерии в условиях ее сужения атеросклеротической бляшкой.

Типы инфарктов

- *белый (ишемический) инфаркт,*
 - *красный (геморрагический) инфаркт*
 - *белый (ишемический) инфаркт с геморрагическим ободком (венчиком).*
-
- Различие морфологии типов инфаркта обусловлено неодинаковыми механизмами их развития.

Макроскопически

- инфаркт любого типа может иметь либо коническую, либо неправильную форму.
- Коническую форму имеет обычно инфаркт, развивающийся в бассейне артерий с магистральным типом ветвления,
- неправильную форму - с рассыпным типом.

Белый (ишемический) инфаркт

- этот тип инфаркта встречается в селезенке, печени.
- Развитию его предшествует ишемическая стадия.
- Сформированный ишемический инфаркт становится виден невооруженным глазом примерно через 1 сут.
- **Микроскопически** в зоне инфаркта: некроз чаще коагуляционного, реже колликвационного типа (головной мозг).
- По периферии зона некроза ограничена воспалительным демаркационным валом.

Белый инфаркт



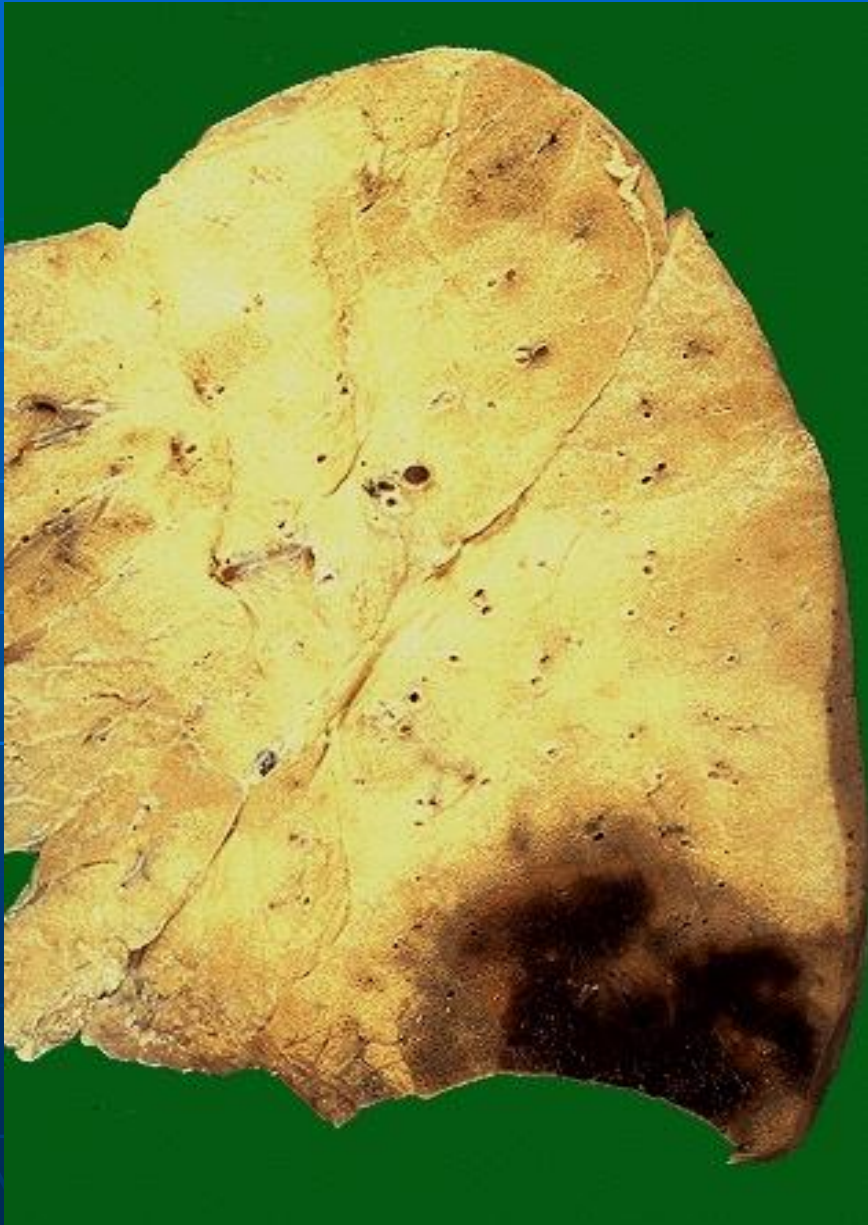
- *Инфаркт
селезенки*



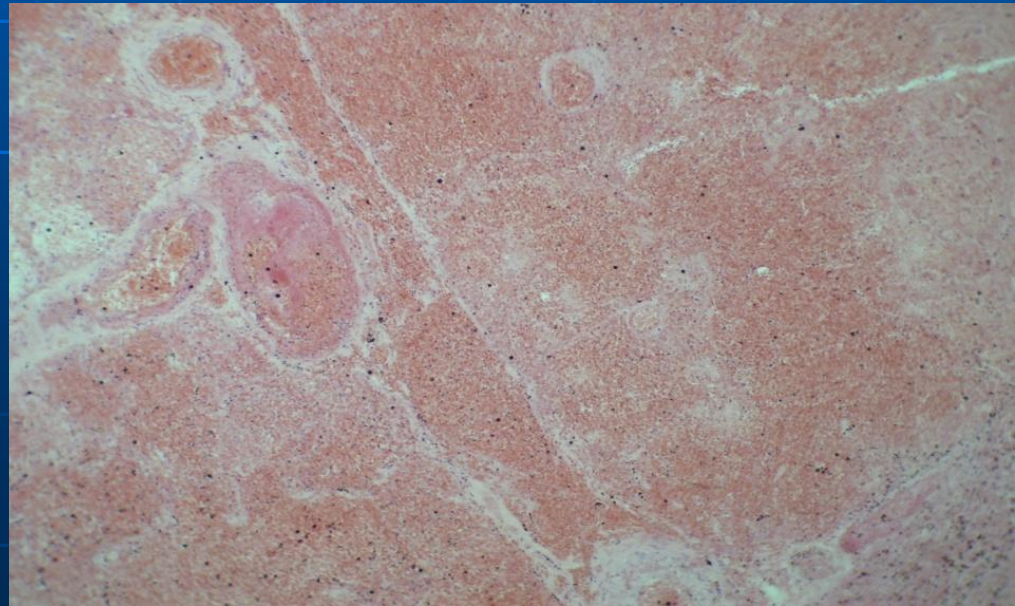
Красный (геморрагический) инфаркт

- зона некроза пропитана кровью. за счет чего участок инфарктирования приобретает темно-красный цвет.
- чаще в легком, головном мозге, кишечнике.
- Условия, способствующие его развитию: венозный застой и двойное кровоснабжение органа (из разных сосудистых систем).
- **Микроскопически:** массы агглютинированных и гемолизированных эритроцитов, замещающие разрушенные структуры органа.
- Особенность перифокальной реакции - присутствие большого количества сидерофагов и глыбок гемосидерина.

Красный (геморрагический) инфаркт



- *Геморрагический инфаркт легкого*



Ишемический инфаркт с геморрагическим венчиком

- развивается в тех случаях, когда в ходе формирования ишемического некроза с опозданием включаются коллатерали и сосуды краевой зоны инфаркта после их длительного спазма.
- в сосудах краевой зоны - паралитическое расширение. резкое полнокровие, стаз + излияние крови в некротизированную ткань.

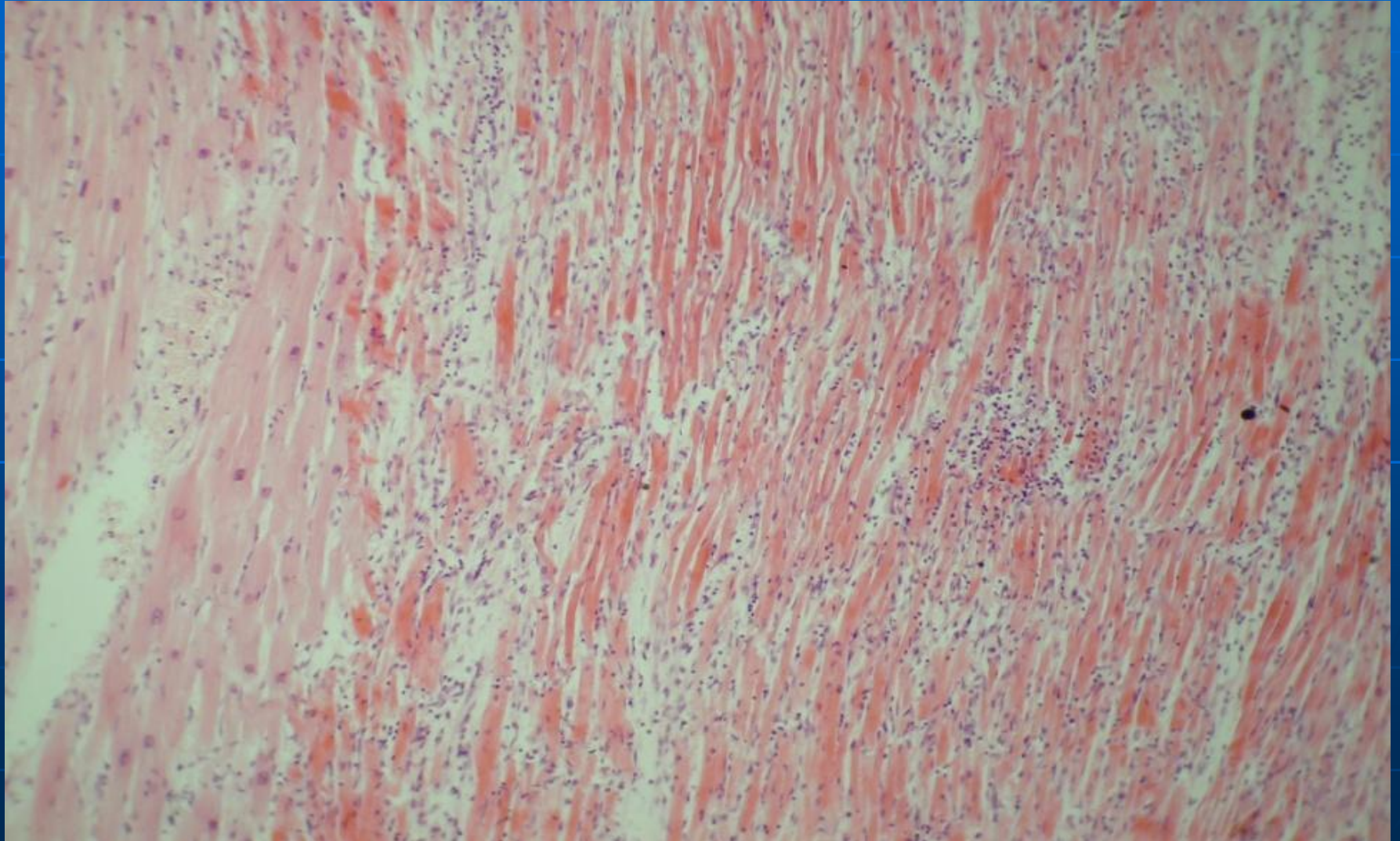
Этот тип инфаркта – комбинация красного и белого инфарктов:

- в центре - инфаркт белого типа,
- по периферии - красного.
- часто - в сердце и почках.

Белый инфаркт с геморрагическим венчиком: Инфаркт миокарда



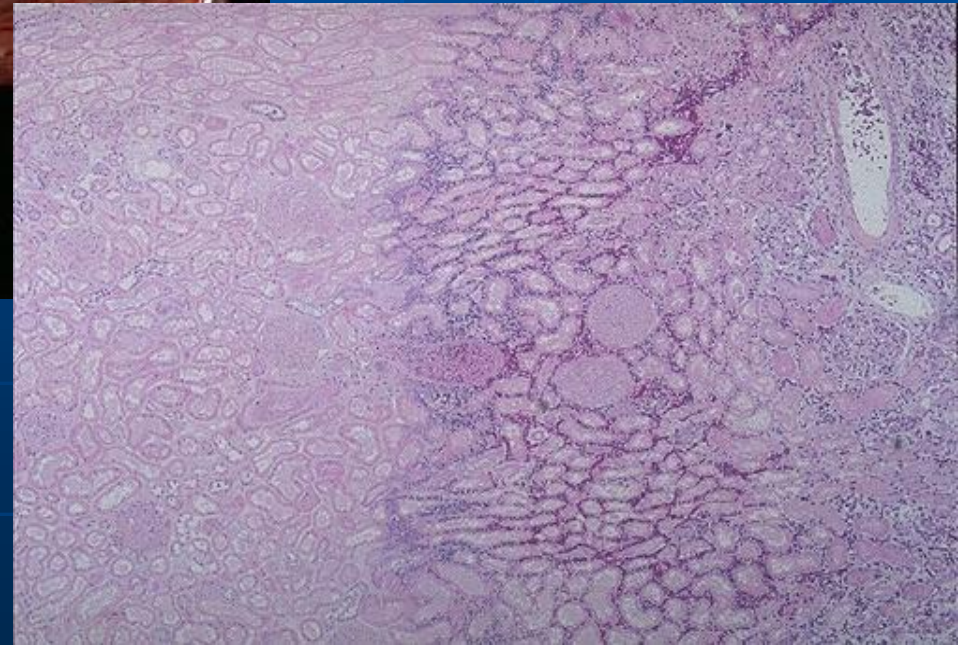
Белый инфаркт с геморрагическим венчиком: Инфаркт миокарда



Белый инфаркт с геморрагическим венчиком



- *Инфаркт почки*



Эволюция инфаркта

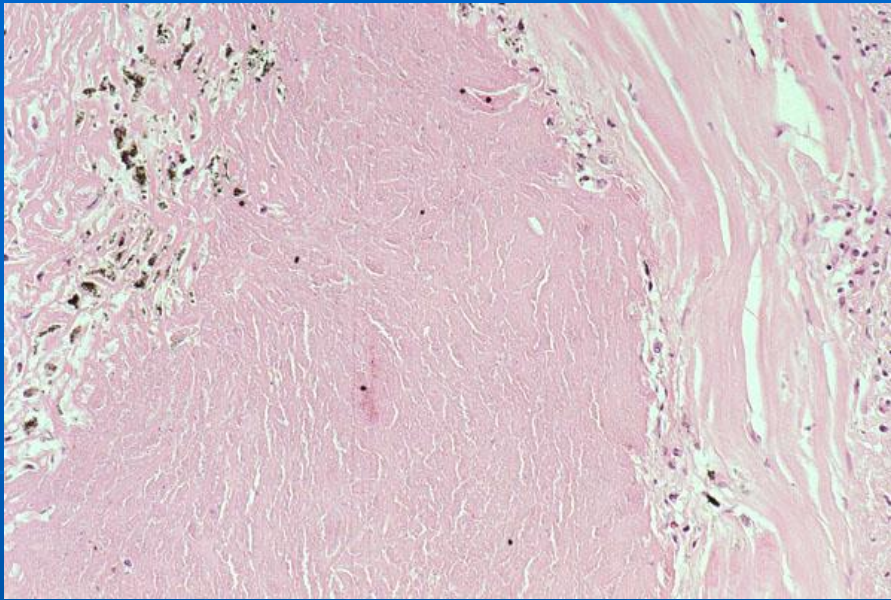
В ходе эволюции инфаркта вслед за формирование некроза - **стадия репаративных изменений:**

- Сначала - перифокальная воспалительная реакция. **Микроскопически** эта реакция - уже через несколько часов; максимум - через 3-5 сут.
- влиянием протеолитических ферментов нейтрофильных лейкоцитов - лизис некротических масс, резорбция их лимфатическими дренажами и фагоцитоз.
- Через 7-10 сут - трансформация демаркационного вала в грануляционную ткань, которая постепенно замещает некротизированные массы.
- В исходе инфаркта - формирование рубца (сердце, почка) или кисты (головной мозг).

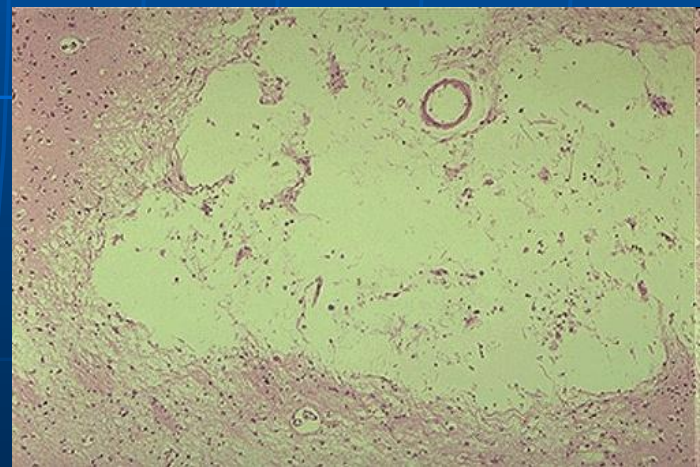
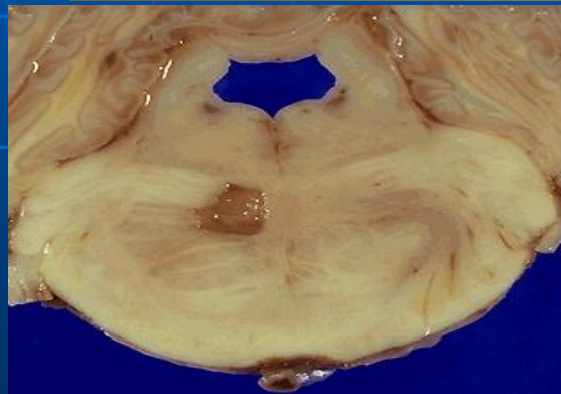
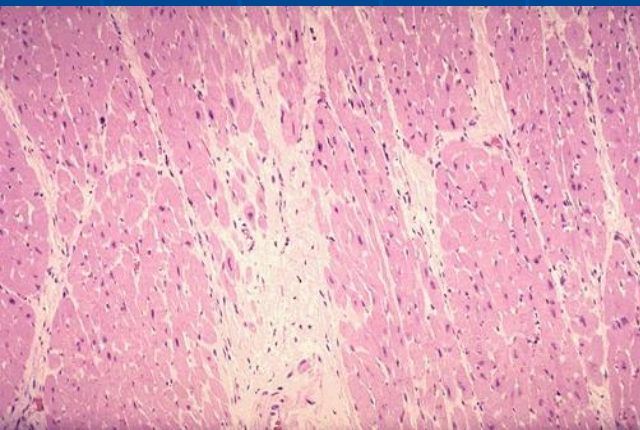
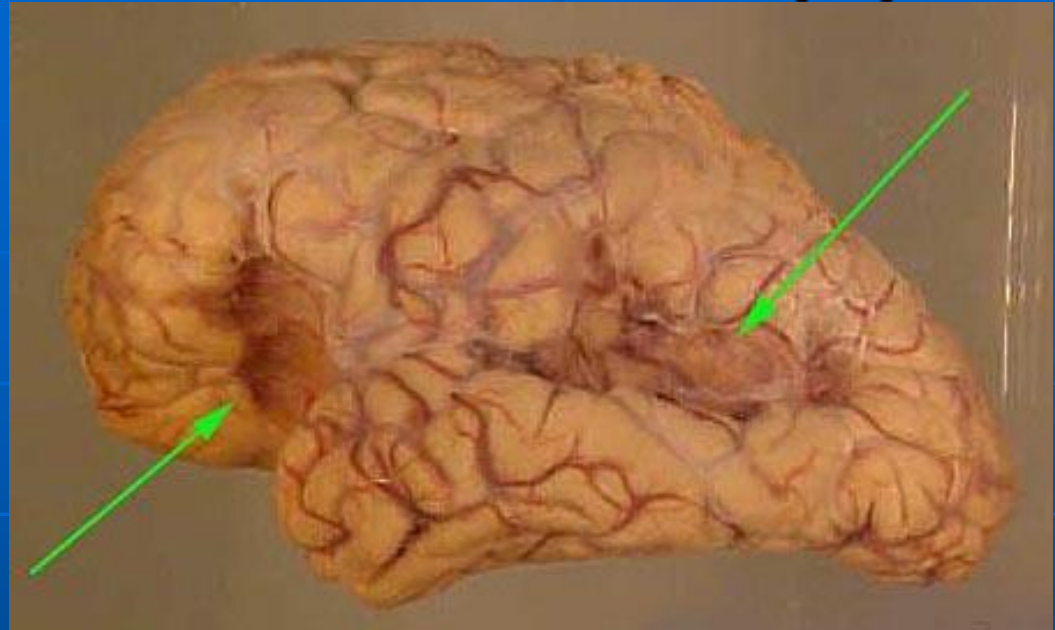
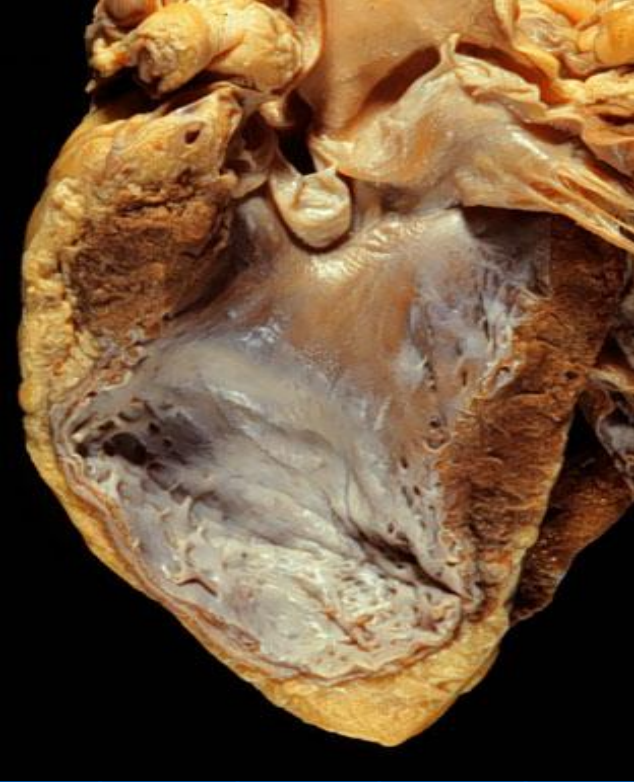
Исходы некроза

1. Регенерация ткани;
2. Организация (образование грубо-волокнистой соединительной ткани = рубец);
3. Инкапсуляция (образование капсулы вокруг очага некроза);
4. Обызвествление (кальциноз, петрификация);
5. Оссификация (образование костной ткани);
6. Инкрустация (отложения мочекислых солей);
7. Гиалиноз;
8. Образование кисты (полости – головной мозг);
9. Секвестрация;
10. Мутиляция (самопроизвольное отторжение мертвых частей – пальца);
11. Мумификация (плода)
12. Смерть в результате поражения жизненно важных органов.

Исходы некроза



Эволюция инфаркта



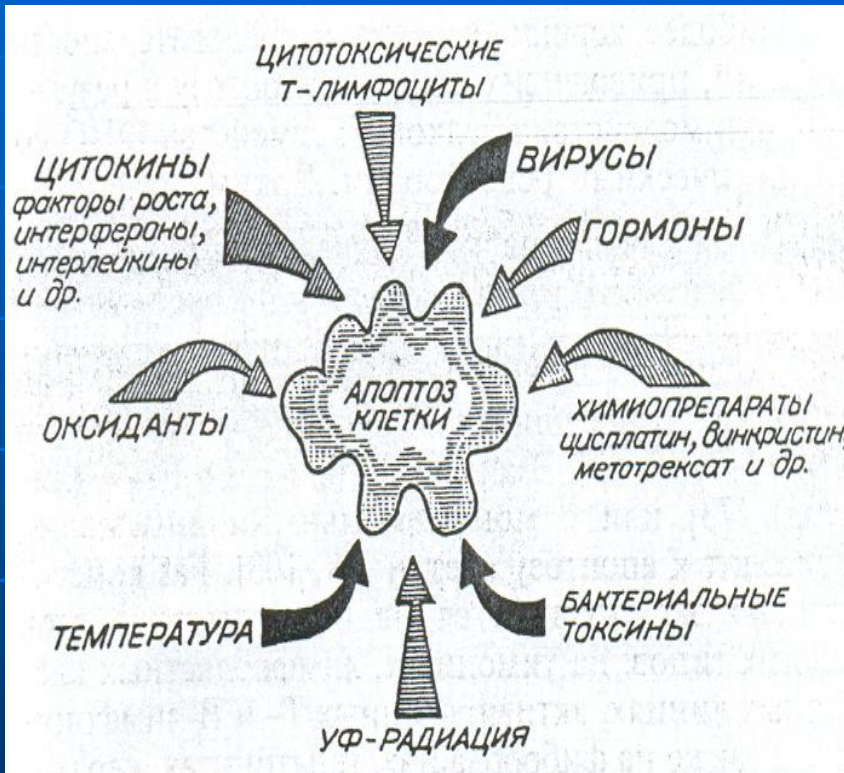
Апоптоз

- запрограммированная гибель клетки;
- морфологическое выражение повреждения клетки;
- Разновидность смерти клетки.
- 1972 г. – год признания апоптоза как физиологического явления;
- Играет жизненно важную роль в процессе эмбрионального и онтогенетического развития.

Физиологические, приспособительные и патологические процессы, характеризующиеся развитием апоптоза:

1. Запрограммированная деструкция клеток в процессе эмбриогенеза;
2. Возрастная гормон-обусловленная инволюция;
3. Гибель клеток в пролиферирующих клеточных популяциях;
4. Гибель клеток в опухолях;
5. Гибель иммунных клеток;
6. Гибель клеток, вызванная цитотоксическими Т-лимфоцитами;
7. Патологическая атрофия паренхиматозных органов после обтурации протока;
8. Гибель клетки, вызванная различными инфекционными стимулами.

Причины апоптоза



- Апоптоз могут вызывать как внутриклеточные сигналы, так и внешние, опосредующие свое действие через рецепторные системы, которые сами по себе не являются токсическими или деструктивными.
- Если речь идет о физиологических факторах, следует применять термин «регуляция апоптоза клетки», так как известна группа физиологических активаторов и ингибиторов апоптоза.

Стадии апоптоза

- **Стадия обратимых изменений**, во время которой процесс апоптоза может быть остановлен и клеточные структуры будут репарированы
- **Стадия необратимых изменений**, во время которой клеточные структуры разрушаются и клетка образует апоптотические тельца

Апоптоз: стадия 1



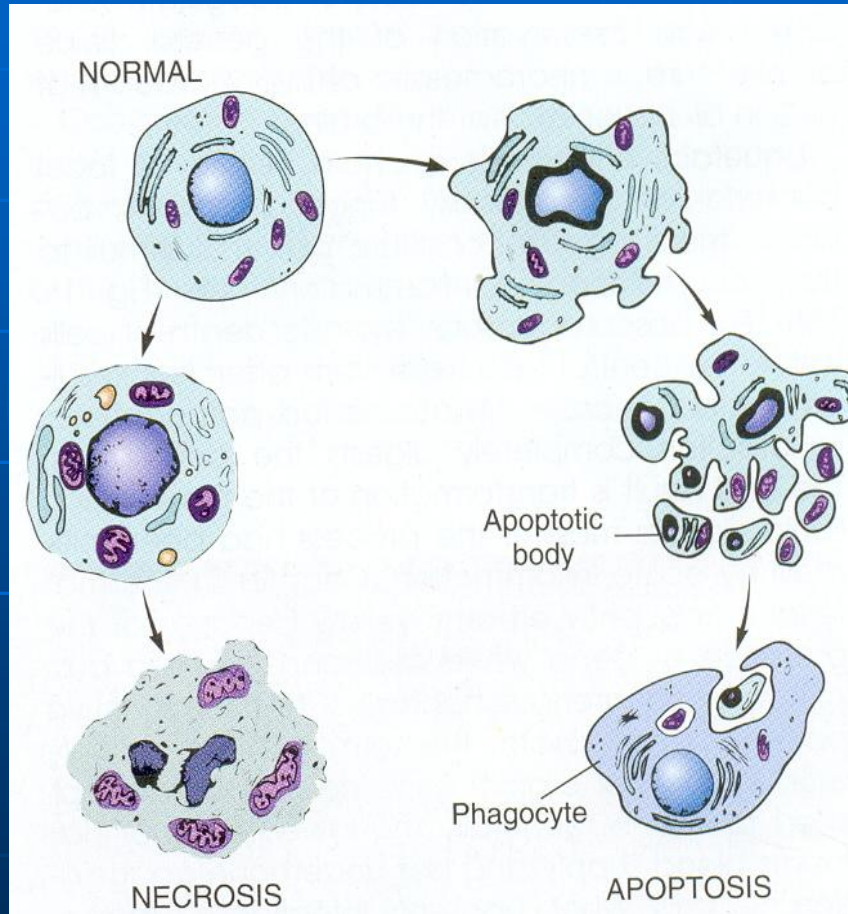
Апоптоз: стадия 2



Основные характеристики апоптоза:

1. Уменьшение объема апоптотирующей клетки;
2. Конденсация и фрагментация хроматина на ранних стадиях апоптоза с формированием так называемых апоптотических телец;
3. Изменение мембраны апоптотирующей клетки, приводящее к распознаванию ее фагоцитами;
4. Сопряженность апоптоза с активным белковым синтезом.

Морфология апоптоза



1. Сморщивание ядра;
2. Конденсация и фрагментация хроматина;
3. Образование цитоплазматических выпячиваний и апоптотических телец;
4. Фагоцитоз апоптотических клеток или телец.

Различия между апоптозом и некрозом

Свойство	Некроз	Апоптоз
Возможен запуск процесса стимуляцией извне	+	+
Может быть нормальным физиологическим актом	—	+
Уменьшение объема клетки	—	+
Энергозависимость процесса	—	+
Утилизация содержимого клетки для дальнейшего фагоцитоза соседними	—	+
Контролируемость процесса	—	+
Нарушение целостности мембраны на ранних стадиях процесса	+	—
Обычно ядро разрушается в последнюю очередь	+	—
Выход лизирующих ферментов в межклеточное пространство и повреждение соседних клеток	+	—

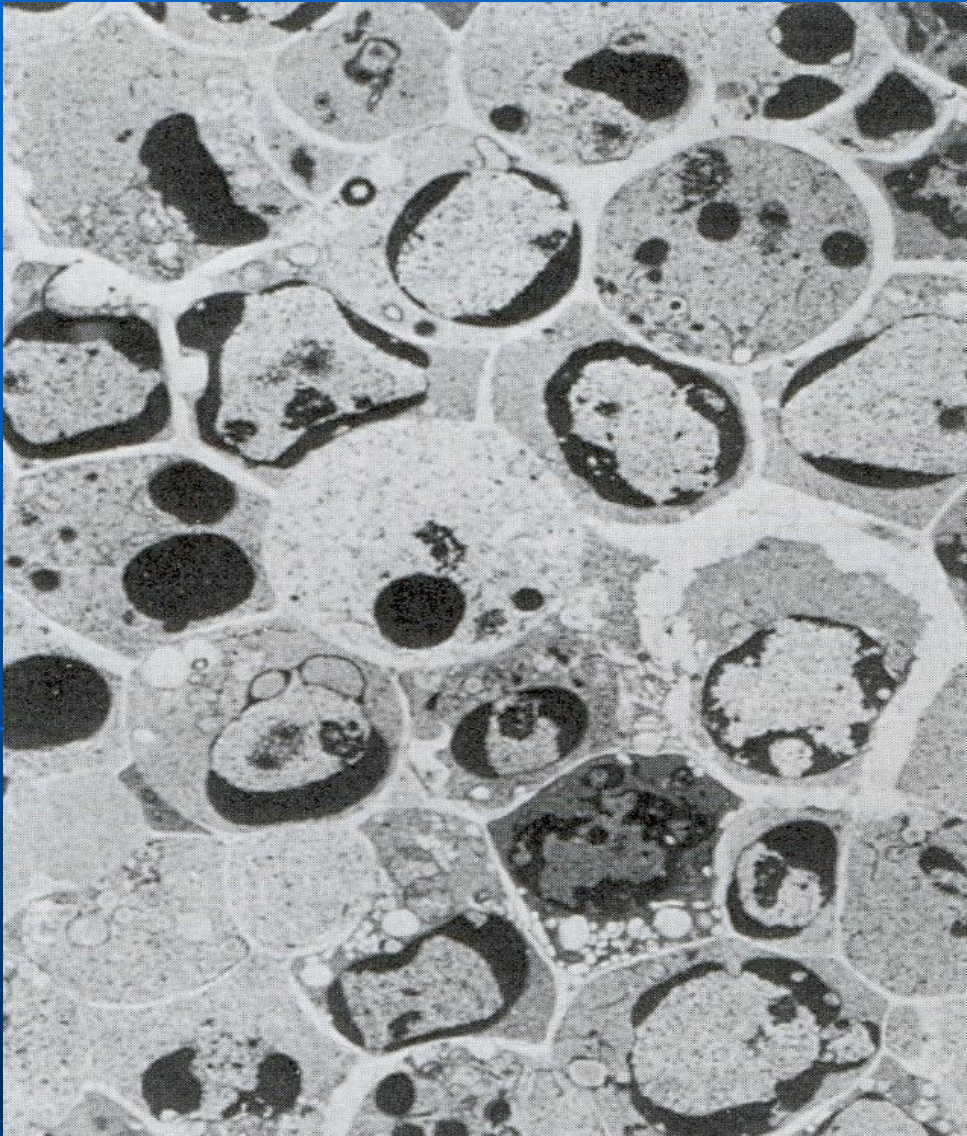
Основные отличия некроза и апоптоза

Некроз	Апоптоз
Имеется внешнее, повреждающее клеточную мембрану воздействие	Нет внешнего воздействия, повреждающего клеточную мембрану
Ядро сморщивается, хроматин конденсируется	Ядро сморщивается, а хроматин конденсируется лишь на конечных стадиях процесса
Повреждаются внутриклеточные мембранные структуры	Не повреждаются внутриклеточные мембранные структуры
Во внеклеточную среду выходят вещества, обуславливающие развитие воспалительной реакции	Не развивается воспалительная реакция
Повреждаются митохондрии и нарушается энергообразование	Нарушается энергообразование в митохондриях
Клетка разрушается, и ее части поглощаются иммунокомпетентными клетками	Элементы цитоплазмы отщепляются в мембранных пузырьках и поглощаются соседними клетками или тканевыми макрофагами
На месте погибшей клетки происходит соединительно-тканное Замещение	На месте погибшей клетки не формируется соединительная ткань

Морфология апоптоза

Ультраструктурные проявления апоптоза:

- Конденсация хроматина на периферии ядер;
- Фрагментация хроматина;
- Образование апоптотных телец.

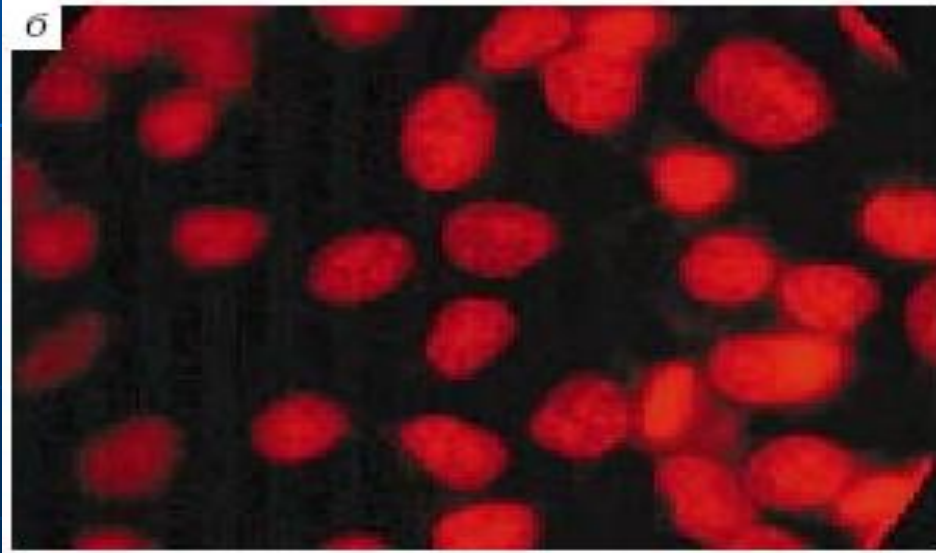


АПОПТОЗ



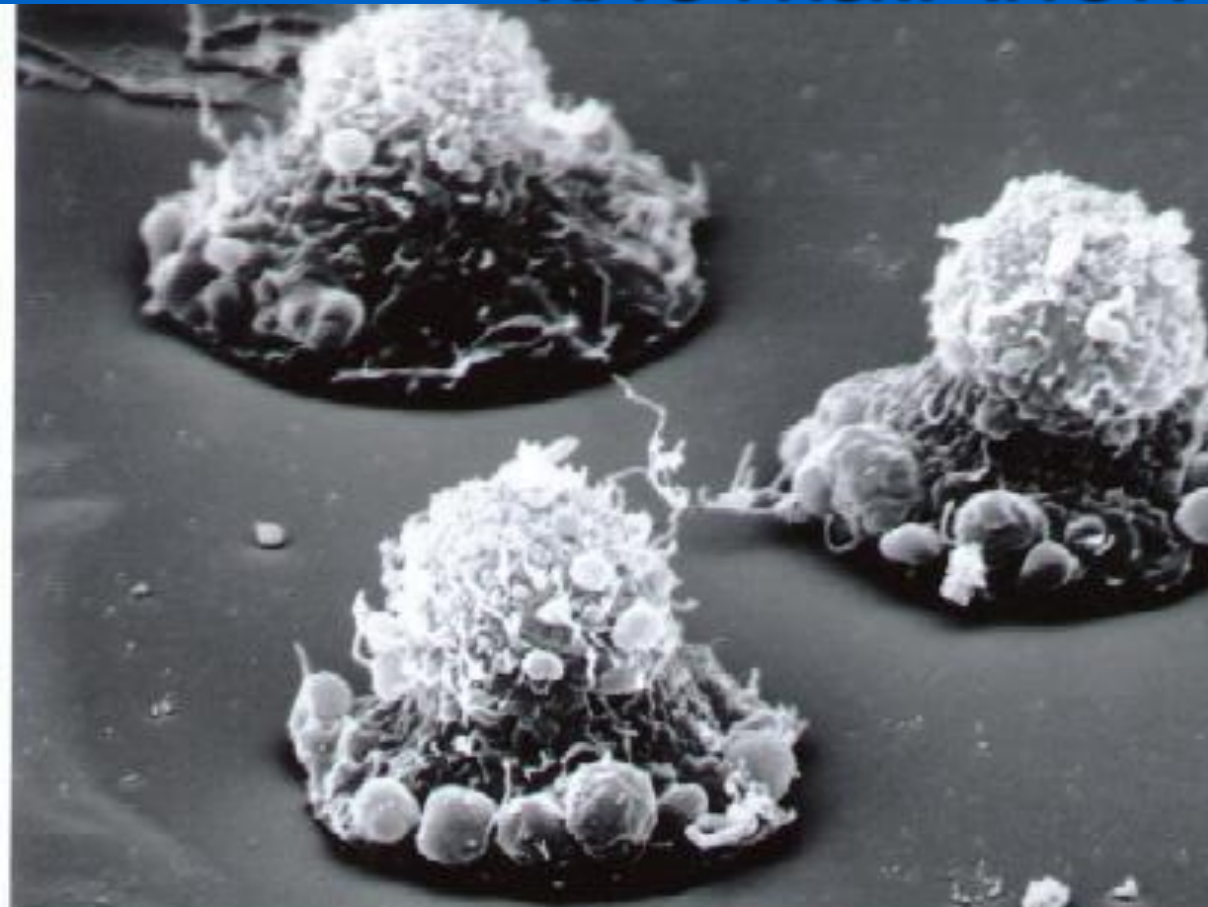
Проточная
цитофлуориметрия:

а - клетки в состоянии
апоптоза



б - контрольные клетки
Краситель,
флюоресцирующий при
освещении
ультрафиолетом

Эпителиальная клетка. Апоптоз.

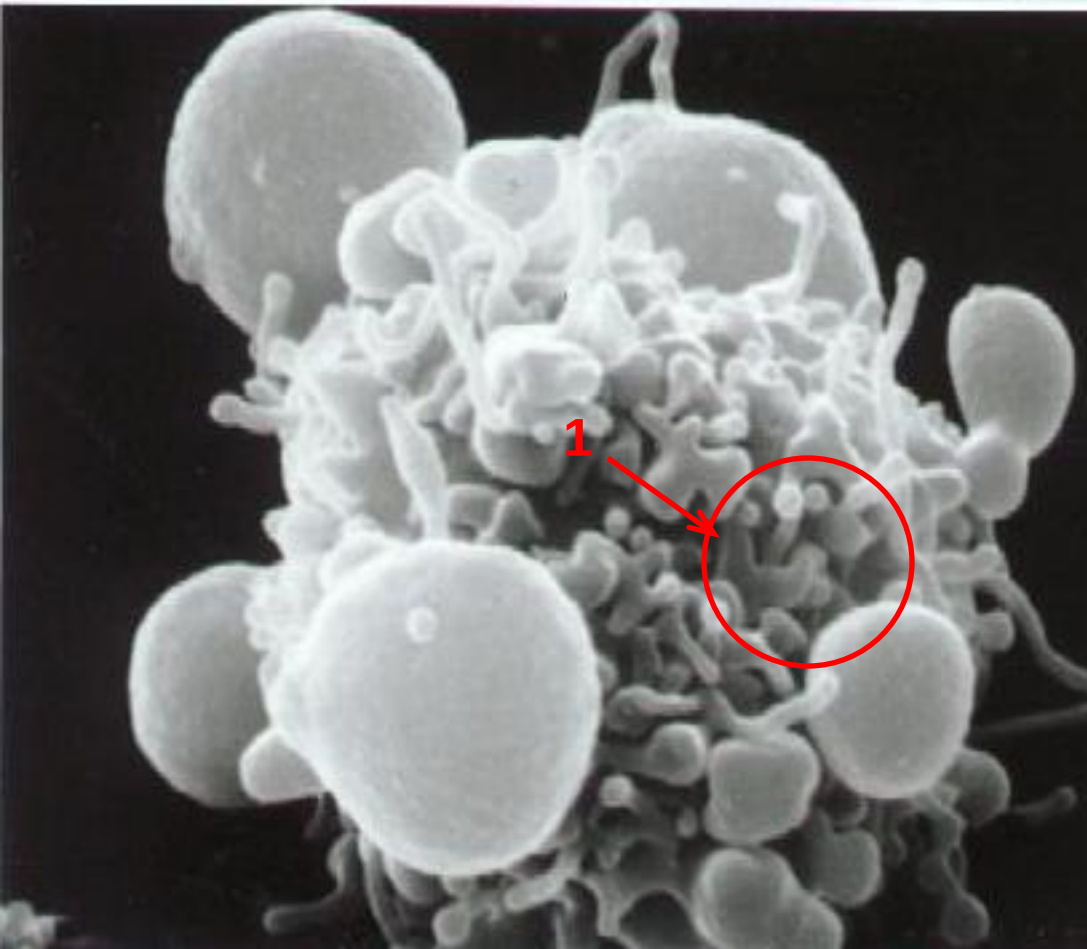


Сканирующая
электронная
микроскопия:

- Образование
апоптотических
телец

© Laboratory of Ultrastructures and Virology,
Istituto Superiore di Sanita',
Rome, Italy.

Завершающий этап апоптоза



Сканирующая
электронная
микроскопия:

1- апоптотические
тельца

Клетки: апоптоз, некроз, митоз



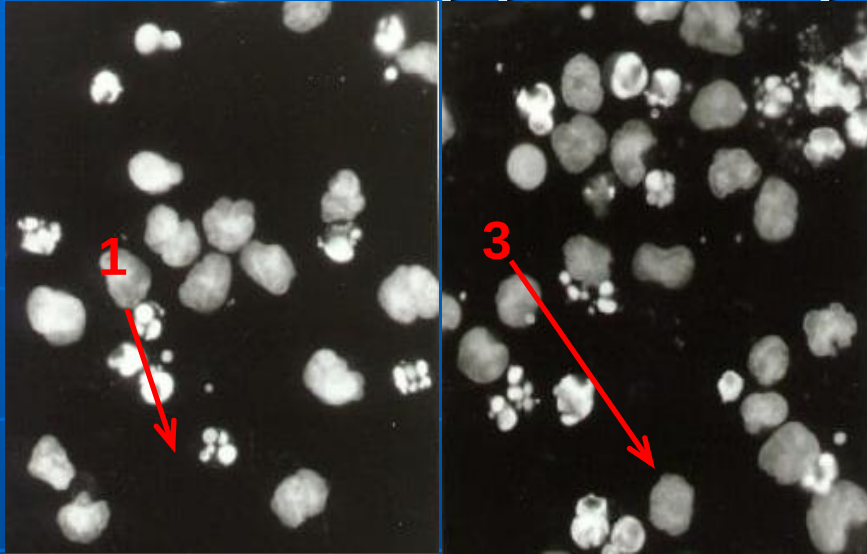
Проточная
цитофлуориметрия:

1- норма

2- митоз

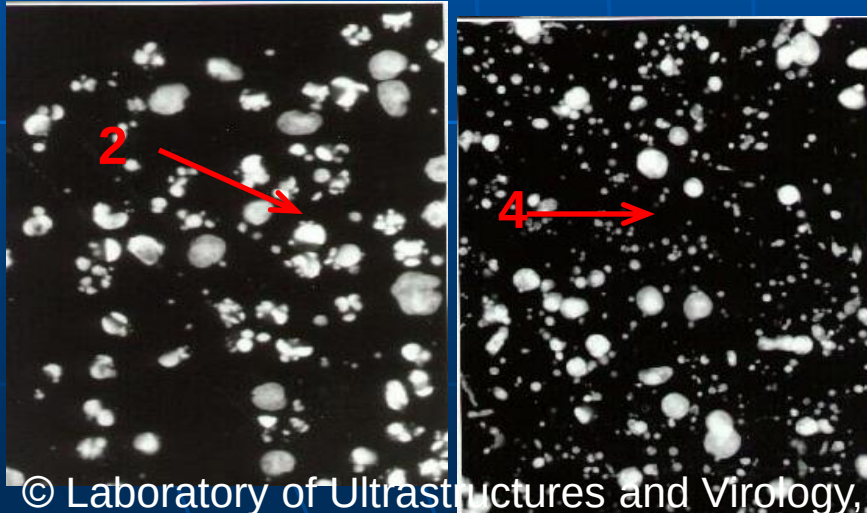
3- апоптоз

Конденсация хроматина



Проточная
цитофлуориметрия:

1- утрата связи с
кариолеммой



2- агрегация хроматина

3- растворение хроматина

4- апоптотические тельца

Конденсация хроматина

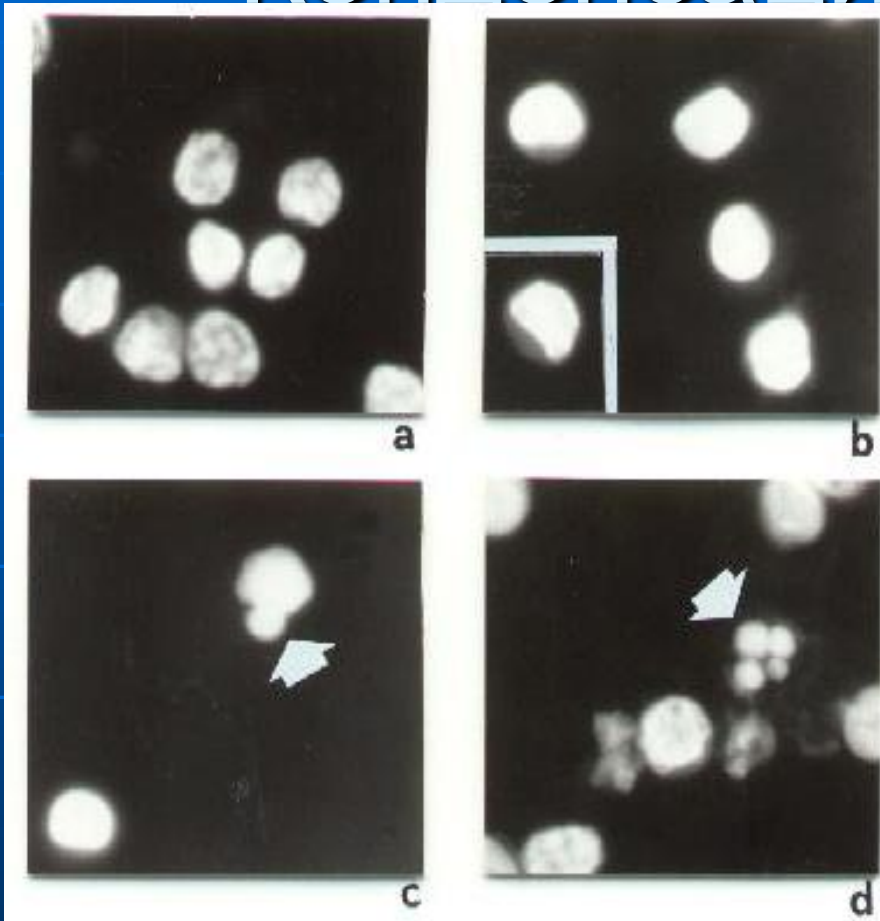
Проточная
цитофлуориметрия:

А- норма

В- утрата связи с
кариолеммой

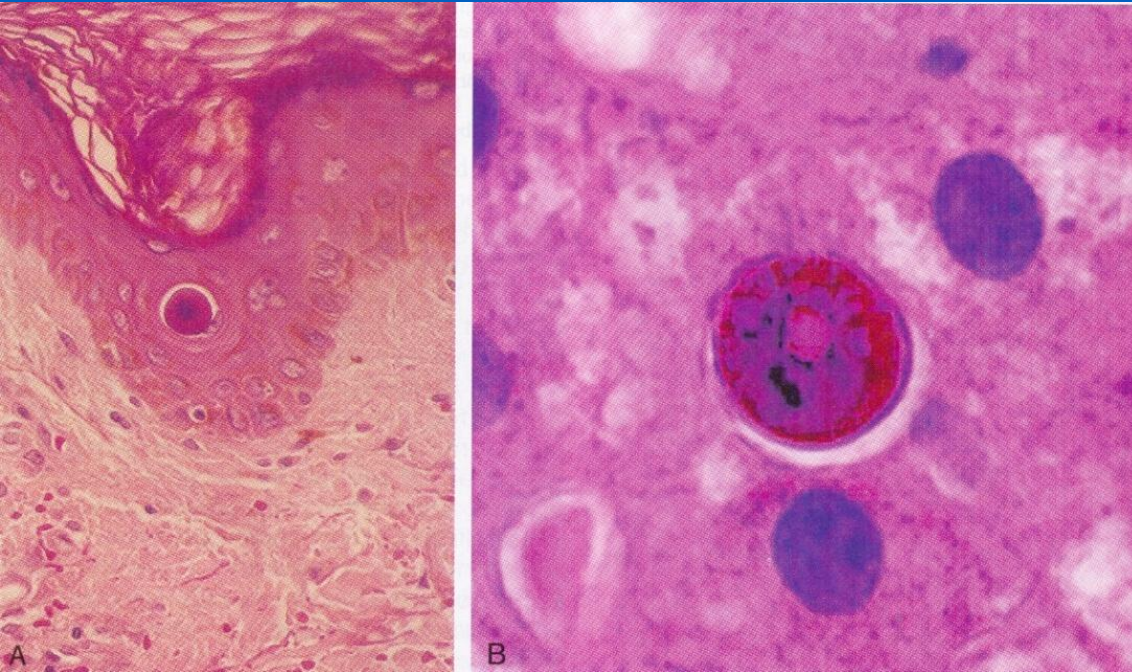
С- распадение ядра

Д- образование
апоптотических телец



Морфология апоптоза

Световая микроскопия:



- интенсивно эозинофильная цитоплазма и маленькое, темное ядро

А) Апоптозная клетка в коже при иммунологически-обусловленной реакции;

В) апоптозная клетка в печени.

Нарушения апоптоза :

1. Повышение выживаемости клеток
2. Снижение выживаемости клеток
3. Вступление клеток в некроз

Способы влияния на клеточную гибель:

1. Индукция апоптоза
2. Ингибирование апоптоза

Индукторы апоптоза

Тип индукторов	Индукторы
Физиологические активаторы	цитокины группы TNF(FasL, TNF и др.)
	глюкокортикоиды
	отсутствие фактора роста
При повреждении	свободные радикалы
	гранзим (Т-лимфоциты)
	токсины (химическая терапия, этанол)
	УФ-излучение
	g-излучение
Защитные	TSG (p53)

Ингибиторы апоптоза

Тип ингибиторов	Ингибиторы
Физиологические ингибиторы	ростовые факторы (IL-2, IL-3)
	гормоны (андрогены, эстрогены)
	регуляторные белки (bcl-2)
	недостаток кислорода (в кардиомиоцитах)
	антиоксиданты
Чужеродные ингибиторы	продукты трансляции вирусов (аденовируса)
	ингибиторы каспазной активности
	ингибиторы энергетики митохондрий
	стабилизаторы митохондриальной мембраны

Патологические состояния, связанные с активацией или угнетением апоптоза

Индукция апоптоза	Угнетение апоптоза
Нейродегенеративные состояния: Болезнь Паркинсона Болезнь Альцгейгера	Нейропролиферативные состояния: Шизофрения Аутизм
СПИД	Персистирующая герпетическая вирусная инфекция Персистирующая цитомегаловирусная инфекция
Ишемические повреждения инфаркт инсульт	Вирусные гепатиты В и С
Апластические и гипопластические анемии	
Токсические повреждения	
Поражения почек: нефросклероз/гломерулосклероз интерстициальный нефрит эконефропатия дисплазии, в том числе кистозные поликистозная болезнь почек гидронефроз рефлюкс-нефропатия острая почечная недостаточность	Заболевания почек: гломерулонефрит IgA-нефропатия люпус-нефрит абсцесс почки

Способы влияния на клеточную гибель в клинике

1. Индукция апоптоза при онкологических заболеваниях
2. Ингибирование апоптоза при ишемии

Регуляция апоптоза гормонами

- Удаление эндокринной железы -> массовая инволюция клеток-мишеней;
- Одни и те же гормоны - ингибиторы апоптоза для одних клеток и индукторы апоптоза для других (андрогены являются ингибиторами апоптоза для клеток простаты, в то же время – индукторами апоптоза для фолликулярных клеток яичника; эстрогены являются ингибиторами апоптоза эпителия матки в начале менструального цикла и индуктором апоптоза в конце цикла);
 - Действие гормонов опосредовано внутриклеточными специфическими рецепторами:
 - рецептор, связывая лиганд, регулирует транскрипцию гормоночувствительных генов,
 - это могут быть гены, продукты которых регулируют продвижение клетки по клеточному циклу или апоптозспецифические гены.

Регуляция апоптоза цитокинами

- **Цитокины** – это обширная группа белков, регулирующих пролиферацию и дифференцировку клеток при связывании со специфическими рецепторами на клетках-мишенях;
- **Цитокины** действуют на пара- и аутокринном уровне;
- **Цитокины** в зависимости от структуры и функции подразделяются на:
 - 1) Ростовые факторы (колониестимулирующие факторы, эпидермальный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста),
 - 2) Семейство ФНО,
 - 3) Спиральные цитокины (интерлейкины, интерфероны).
- **Цитокины** могут быть как индукторами, так и ингибиторами апоптоза (это зависит от типа клетки, стадии ее дифференцировки, функционального состояния клетки).

Развитие апоптоза вследствие взаимодействия белков из семейства ФНО со специфическими рецепторами

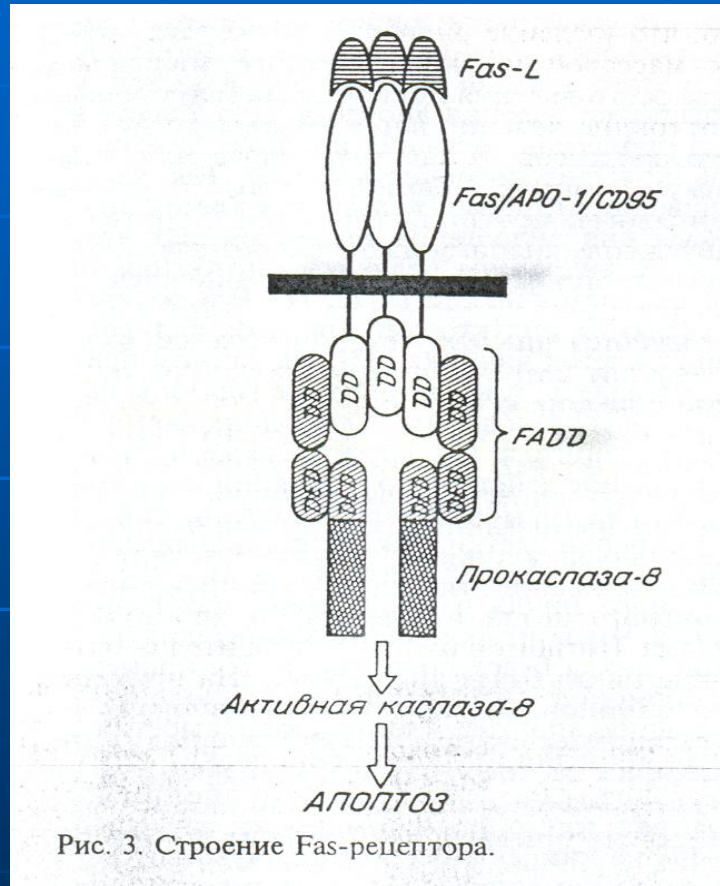
Система Fas/Fas-L (представитель группы белков ФНО):

- Основная функция – индукция апоптоза;
- Взаимодействие *Fas* с *Fas-L* или с *MAT* приводит к апоптозу клетки;
- *Fas* конститутивно экспрес-сируется на поверхности клеток (на тимоцитах, лимфобластах, активированных Т- и В-лимфоцитах, фибробластах, гепатоцитах, кератиноцитах, миелоидных клетках;
- Человеческий *Fas* относится к мембранным белками I типа, в его структуре выделены внеклеточный, трансмембранный и цитоплазматический домены;

Система Fas/Fas-L

- *Fas-L* является цитокином, относится к семейству цитокинов ФНО.
- *Fas-L* экспрессируется на активированных Т-лимфоцитах и натуральных киллерах, а также на клетках Сертоли и паренхимных клетках передней камеры глаза, что позволяет этим клетками убивать любую *Fas*-экспрессирующую клетку, в т.ч. активированный Т-лимфоцит. Этот механизм определяет появление защищенных от иммунной системы мест.
- *Fas-L* существует в 2-х формах: нерастворимой, или мембраносвязанной, и растворимой, отщепляемой от клетки с помощью металлопротеиназы (последняя форма человеческого *Fas-L* сохраняет свою активность);

Система Fas/Fas-L



- **Fas-L** — гомотример связывается в 3 молекулами Fas;
- При связывании лиганда с рецептором происходит олигомеризация цитоплазматических белков:
 - 1) DD (домен смерти), относящегося к рецептору;
 - 2) Адапторного белка FADD (Fas-ассоциированный домен смерти),
 - 3) прокаспазы-8.
- В результате этого процесса происходит активация апоптоз-специфической протеазы — каспазы-8 и развиваются характерные для апоптоза процессы.

Роль протеолиза в развитии апоптоза

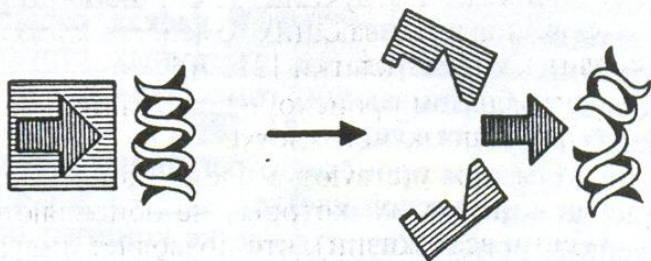
- Протеазам принадлежит центральная роль в запуске и развитии апоптоза;
- При апоптозе действуют свои, характерные только для апоптоза, специализированные необратимые реакции протеолиза, катализируемые специфическими протеазами, относящимися к классу цистеиновых протеаз.
- Эта группа протеаз, названная *каспазами (caspases)*, существует обособленно и функционирует как медиатор сигнала смерти. «С» отражает механизм протеолиза (в активном центре находится цистеин); «Asp» - аспарагиновая кислота (субстрат, пептидная связь после нее подвергается гидролизу), «As» - окончание, свойственное ферментам.

Каспазы

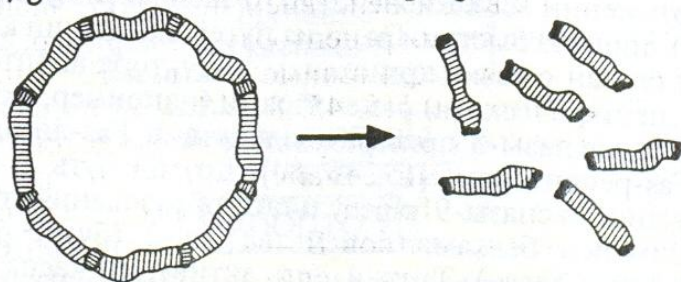
- Обнаружено 10 каспаз, образующих ферментативный каскад;
- Имеют высокую степень гомологии по своей аминокислотной последовательности, сходны по структуре и по субстратной специфичности;
- Синтезируются в виде проферментов, которые содержат 3 домена: N-концевой домен, большую субъединицу (20 кД) и малую субъединицу (10 кД).
- Во время активации подвергаются протеолитическому отщеплению N-концевого домена;
- Этот процессинг между доменами сопровождается ассоциацией большой и малой субъединиц в гетеродимер с формированием активного центра;
- Среди каспаз различают эффекторы и индукторы;
- Молекулярные мишени каспаз-эффекторов: цитозольные белки (Bcl-2, каспазы, белки цитоскелета), ядерные белки, ламины, гистон H 1, топоизомеразы и др.

Механизмы действия каспаз-эффекторов

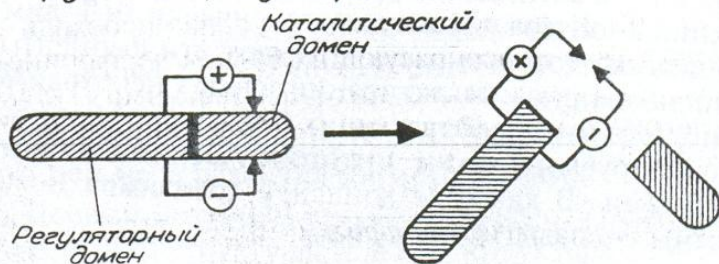
1. Инактивация ингибиторов апоптоза



2. Разрушение клеточных структур



3. Нарушение регуляции белков



- 1) Инактивация белков, которые защищают живую клетку от апоптоза;
- 2) Непосредственно разрушение клеточных структур, например ядерных белков ламинов.
- 3) Дерегуляция белков путем отщепления их регуляторной и каталитической субъединиц, в результате чего такие белки теряют свою функцию.

Пути активации каспаз

- Один из путей связан с взаимодействием индуктора апоптоза со специфическими рецепторами (например активация каспазы-8 при взаимодействии Fas-лиганда с Fas-рецептором);
- Другой путь – активация каспазы-9 в результате образования гетеродимеров белками семейства Bcl-2;
- Третий путь – при помощи гранзимов В – сериновой протеазы (в случае индукции апоптоза клетки цитотоксическими Т-лимфоцитами, которые и секретируют эти ферменты), в качестве мишеней гранзимов В известны каспазы 1, 3 и 9.

Апоптозспецифическая фрагментация ДНК

- Деградация ДНК - терминальная фаза апоптоза;
- В ходе деградации ДНК сначала - образование крупных фрагментов, содержащих примерно 300 тыс. пар оснований, несколько позже – 30-50 тыс. п.о.;
- далее - межнуклеосомная деградация ДНК с формированием фрагментов, содержащих 180 п.о. (протяженность нити ДНК в нуклеосоме) или кратных им по величине (эти фрагменты выявляются в виде лесенки при электрофорезе ДНК лизатов апоптотических клеток – это используется для идентификации апоптоза);
- Фрагментация ДНК связана с протеолитическим расщеплением специфического белка топоизомеразы II (выполняет структурную и ферментативную функции, участвует в формировании структур ДНК высшего порядка – суперспирализованных петель, которые содержат по 50 тыс. п.о. 6 петель, объединенных в единую дисковидную розетку, образуют в своем составе соответственно по 300 тыс. п.о.)

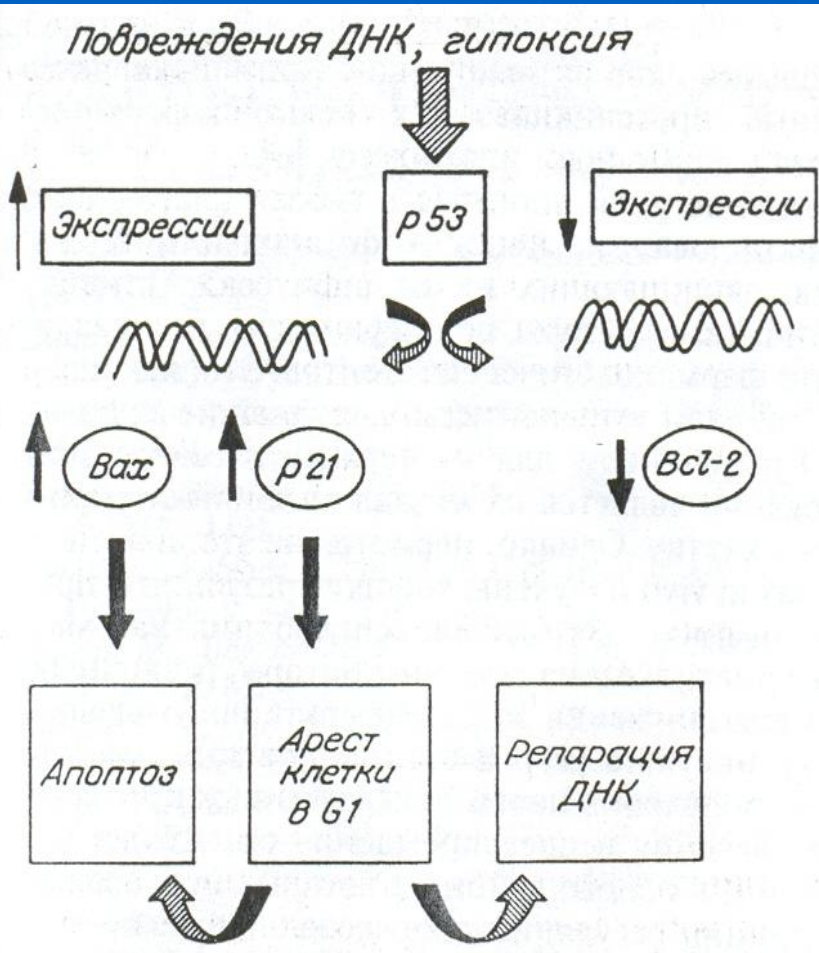
Апоптозспецифическая фрагментация ДНК

- Деградация топоизомеразы II каспазами является одной из причин фрагментации ДНК;
- Также субстратом протеаз при апоптозе является гистон Н 1, который защищает ДНК от действия эндонуклеаз на межнуклеосомальном уровне, в результате этого расщепления происходит деградация ДНК на фрагменты порядка 180 п.о. и кратные им;
- Считается, что межнуклеосомальная деградация ДНК обеспечивается активацией Са и Mg-зависимой эндонуклеазы.

Механизмы индукции апоптоза при повреждении ДНК

- Важная роль принадлежит белку p53, который локализован в ядре клетки и является одним из транскрипционных факторов, повышенная экспрессия которого приводит к репрессии ряда генов, регулирующих транскрипцию и причастных к задержке клеток в фазе клеточного цикла G1.
- При повреждении ДНК под действием ионизирующего или УФ-излучения, ингибиторов топоизомеразы II и некоторых других воздействиях происходит активация экспрессии гена p53;
- Если активность репарационных систем недостаточна и повреждения ДНК сохраняются, то в таких клетках индуцируется программируемая клеточная гибель (апоптоз), что приводит к защите организма от присутствия клеток с поврежденной ДНК, т.е. мутантных и способных к злокачественной трансформации.

Механизмы индукции апоптоза при повреждении ДНК



- На уровне транскрипции p53 регулирует экспрессию генов, участвующих в блокаде клеточного цикла – p21 (ингибитор большинства циклинзависимых киназ), или взаимодействует либо с комплексами, определяющими синтез и репарацию ДНК, либо с белками, модулирующими апоптоз – Bcl-2, Вах;
- Мутации гена p53 позволяют таким клетками сохранять жизнеспособность в митозе, что чревато выживанием клеток, подвергшихся опухолевой трансформации.

Роль белков семейства Bcl-2 в регуляции апоптоза



- Существует несколько фаз апоптоза: фаза инициации апоптоза, проведение сигнала, активация каспаз, активация эндонуклеаз и специфическая деградация ДНК, в результате чего наступает гибель клетки.
- Фаза деградации ДНК является переходом к необратимой, терминальной стадии апоптоза, которую контролируют белки семейства Bcl-2, производные одноименных генов;

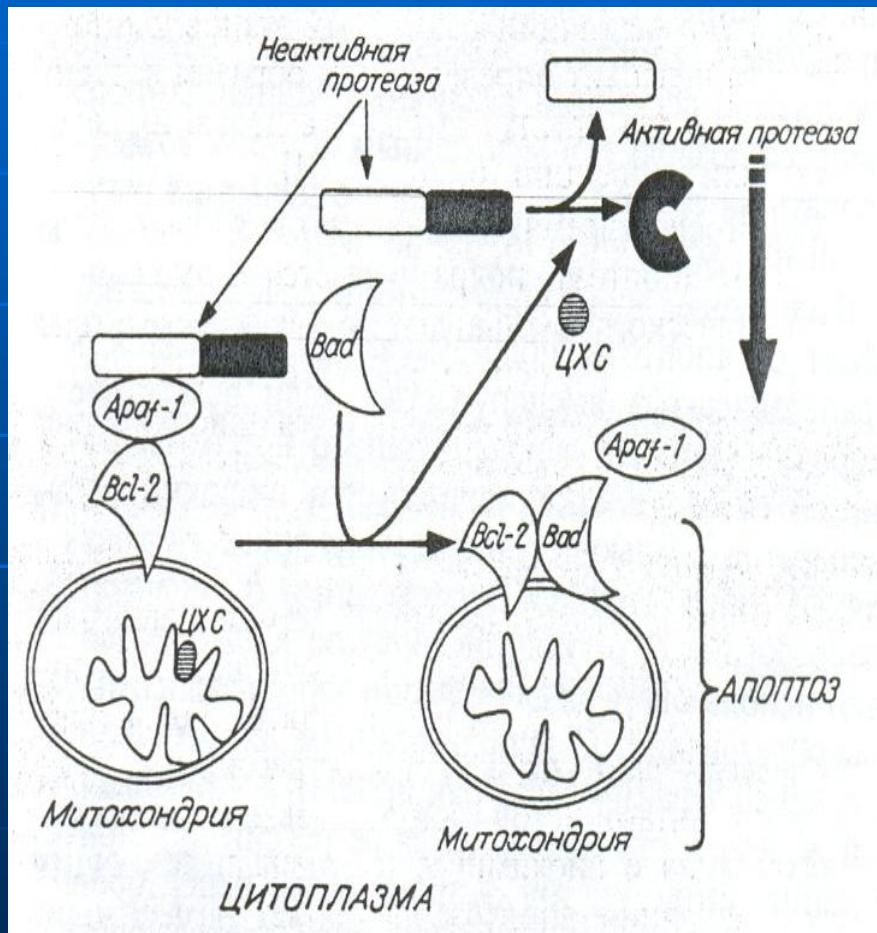
Роль белков семейства Bcl-2 в регуляции апоптоза

- Белки семейства Bcl-2 относятся либо к индукторам апоптоза (Bad, Bax, Bcl-X_s, Bik, Bid, Bak), либо к ингибиторам (Bcl-2, Bcl-X_l);
- Белки семейства Bcl-2 находятся в постоянном динамическом равновесии, образуя гомо- и гетеродиамеры, что в конечном счете влияет на развитие апоптоза клеток;
- Соотношение активных форм этих белков определяет реостат жизни и смерти клетки.

Пути активации белков семейства Bcl-2

- Решающим моментом в запуске апоптоза является гетеродимеризация белков семейства Bcl-2 – индукторов и ингибиторов апоптоза;
- Изучена способность модулировать состояние белков семейства Bcl-2 по крайней мере различными механизмами.
- *Первый механизм* связан с изменением структуры белка – индуктора апоптоза – Bad, а именно его степени фосфорилирования/дефосфорилирования;
- Этот механизм осуществляется через рецептор ИЛ-3, который связываясь со специфическим рецептором, активирует специфические киназы, которые осуществляют фосфорилирование Bad, что увеличивает его сродство к цитоплазматическому белку;

Пути активации белков семейства Bcl-2

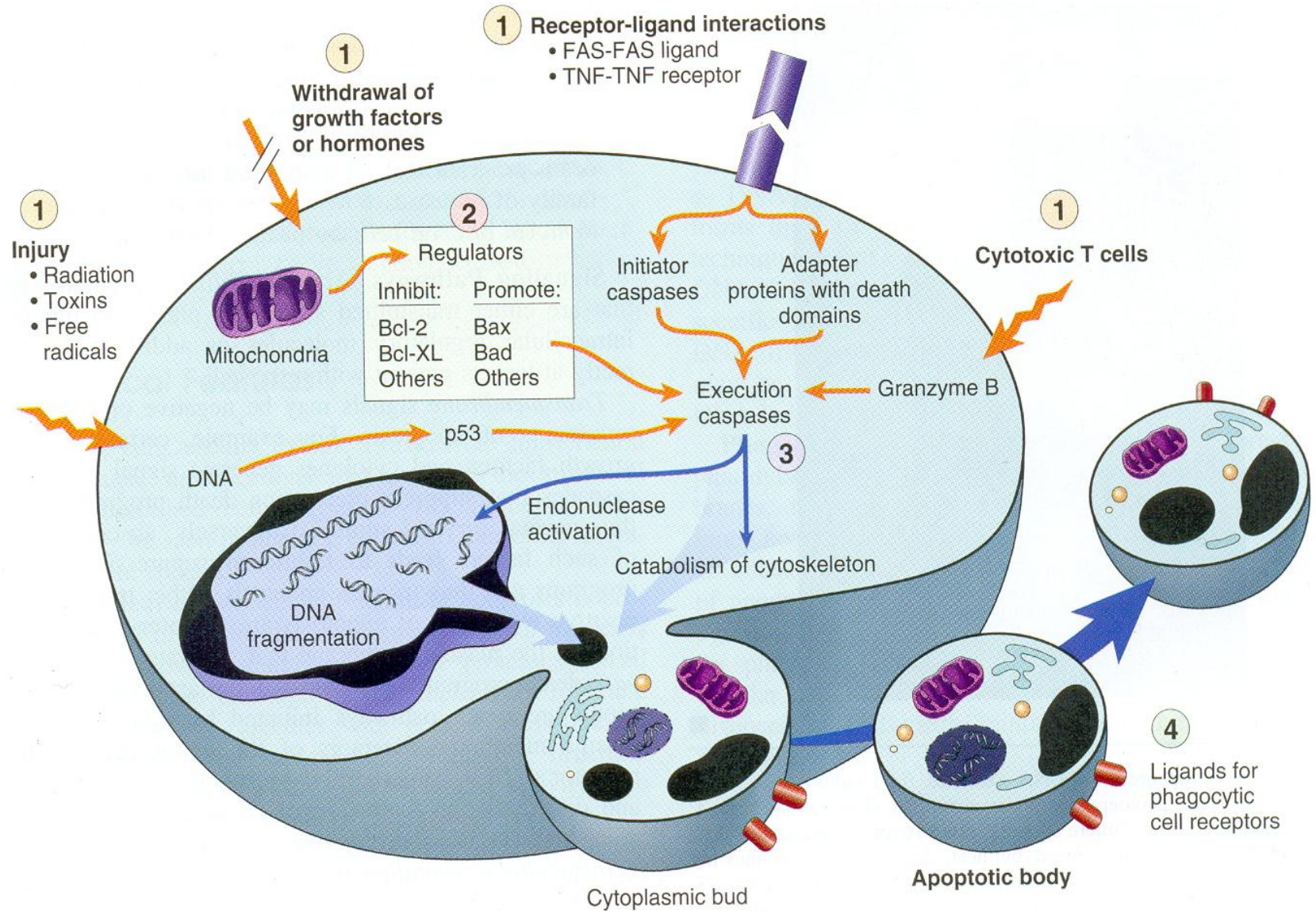


- В отсутствии ИЛ-3 активируются фосфатазы, что приводит к дефосфорилированию Bad, образование гетеродимеров Bcl-2/Bad и запуску процесса апоптоза за счет высвобождения митохондриальных факторов (цитохрома С, апоптозиндуцирующего фактора), что приводит к распаду комплекса Bcl-2/Araf-1/неактивная каспаза-9, что вызывает активацию каспазы-9.

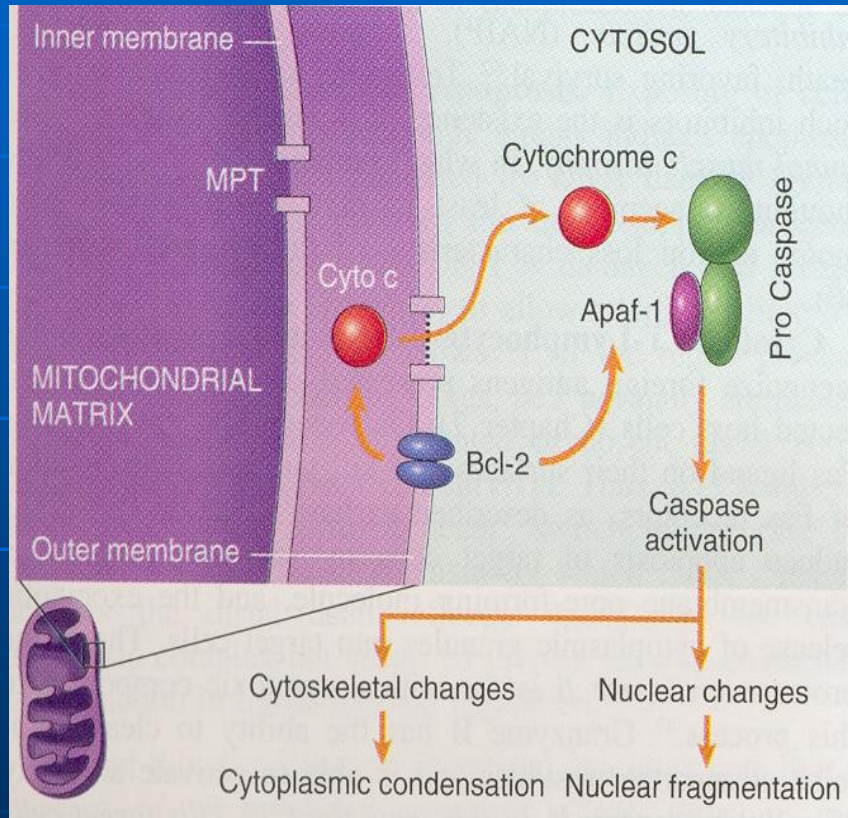
Пути активации белков семейства Bcl-2

- *Второй механизм* также связан с фосфорилированием/ дефосфорилированием белков-индукторов апоптоза посредством киназы Raf-1, активируемой через специфические рецепторы Raf-1 с участием G-белка – Ras.
- При поступлении специфического апоптогенного сигнала происходит фосфорилирование белка Бах. Что уменьшает его способность образовывать гетеродимеры с Bcl-2, в результате чего ингибируется апоптоз.
- *Третий механизм* возможного ингибирования белка Bcl-2 обусловлен взаимодействием с белком Баг-1. Белок Баг-1 способен соединяться с Bcl-2 и с цитоплазматическим доменом рецептора для гепатоцеллюлярного фактора роста и тромбоцитарного фактора роста. При отсутствии в среде этих факторов Баг-1 связан с Bcl-2. При взаимодействии этих факторов со специфическими рецепторами Баг-1 взаимодействует с цитоплазматическим доменом этого рецептора, освобождая Bcl-2, что приводит к апоптозу.

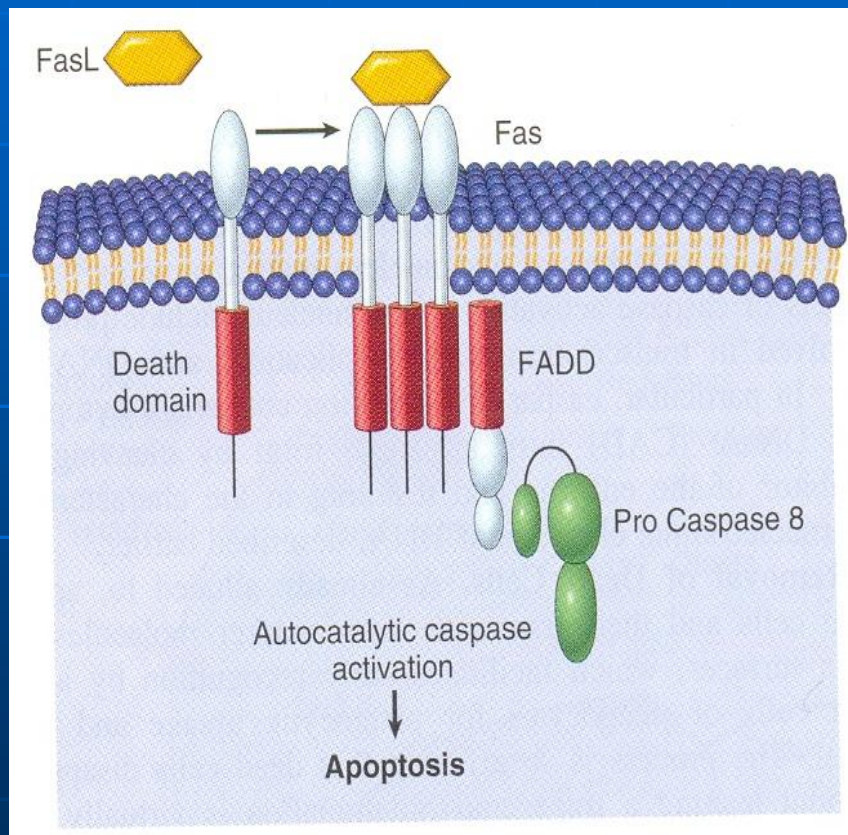
Схема развития апоптоза



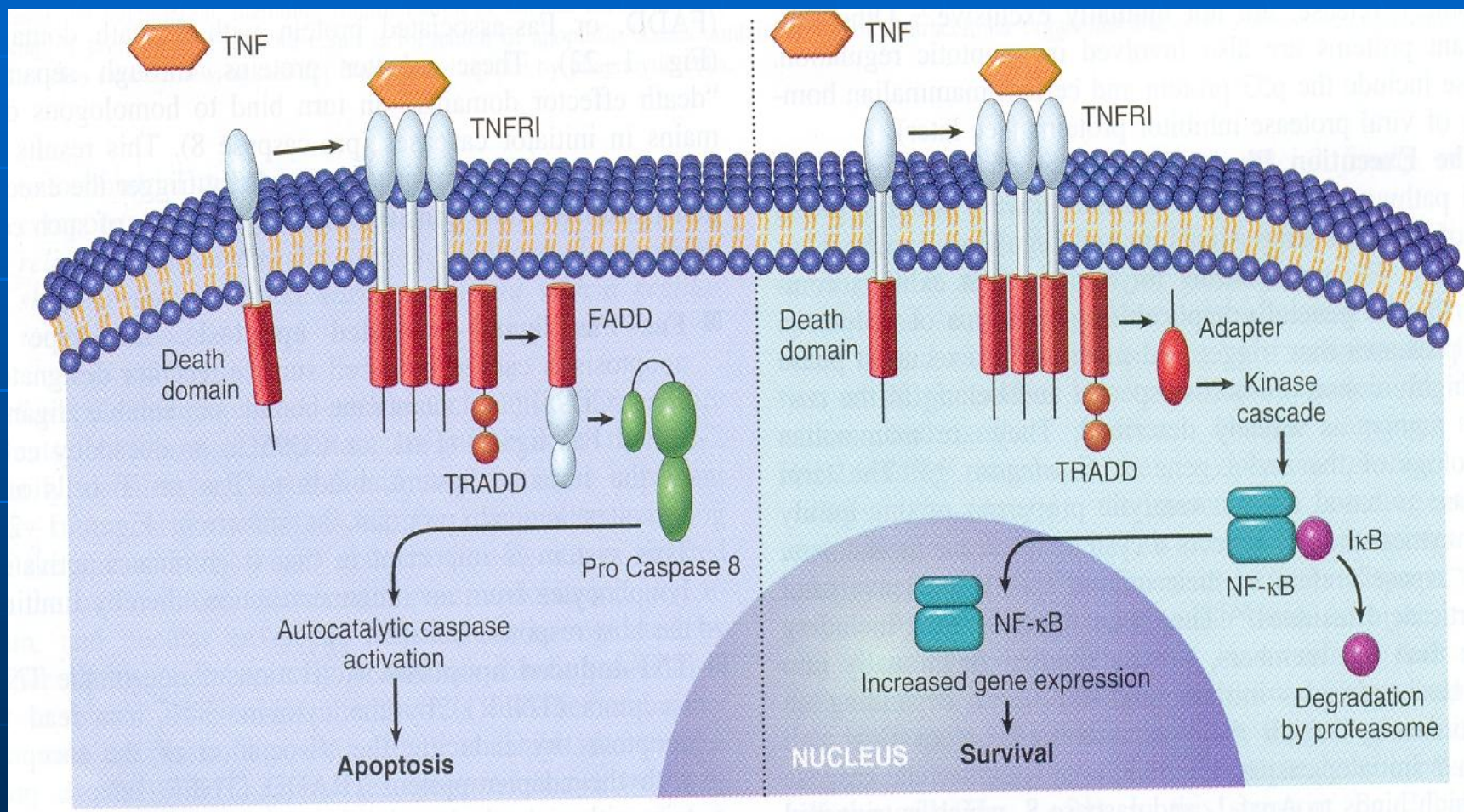
Изменения митохондрий и эффекты Bcl-2 при апоптозе



Модель Fas-опосредованных сигналов, активации каспаз и индукции сигнальной смерти



Апоптоз, индуцированный ФНО.



Терапия на основе апоптоза

- Т.о., апоптоз является общебиологическим механизмом, ответственным за поддержание постоянства численности клеточных популяций, а также формообразование и выбраковку дефектных клеток.
- Нарушение регуляции апоптоза приводит к возникновению различных заболеваний, связанных с усилением или, наоборот, ингибирование апоптоза;
- Следовательно, изучение механизмов регуляции различных этапов данного процесса позволит определенным образом воздействовать на его отдельные этапы с целью их регуляции или коррекции;
- В настоящее время общепринято: если клетка погибает от апоптоза, подразумевается возможность терапевтического вмешательства, если вследствие некроза — нет.

Терапия на основе апоптоза

- На основе знаний о программированной гибели клеток используется широкий ряд препаратов с целью регуляции этого процесса в различных типах клеток.
- Так, сведения о рецепторопосредованной регуляции апоптоза клеток позволяют использовать их для терапии гормонзависимых новообразований (с использованием андрогенблокирующей терапии лечат рак простаты, рак молочной железы часто подвергается регрессии при применении антагонистов эстрогеновых рецепторов);
- Информация о биохимических сигналпередающих путях регуляции апоптоза позволяет эффективно применять антиоксидантную терапию, а также использовать препараты, регулирующие концентрацию кальция либо активирующие (ингибирующие) различные протеинкиназы, с целью коррекции апоптоза в различных типах клеток.

Перспективы медицины на основе знаний об апоптозе

- Осознание роли апоптоза в гибели клеток интенсифицировало поиск фармакологических средств, защищающих их от апоптоза;
- Многообещающими являются подходы, связанные с регуляцией апоптозспецифических генов и реализующиеся, в частности, в генной терапии – одной из самых перспективных областей современной медицины – при лечении заболеваний, вызванных нарушением функционирования отдельных генов.
- Идентификация морфологических и биохимических маркеров апоптоза должна в перспективе способствовать более глубокому пониманию механизмов патогенеза заболеваний, улучшению дифференциальной диагностики и созданию принципиально новых направлений терапии.

Спасибо за внимание!