

Poškození buňky, adaptace

2009

HOMEOSTÁZA – ADAPTACE

Homeostáza (steady state) – udržování metabolické rovnováhy v buňce (organismu). Alterace jednoho parametru této rovnováhy vyvolá k znovudosažení rovnováhy změnu jiného (nebo několika) parametru. Tento proces se nazývá adaptace a jejím výsledkem je nový rovnovážný stav.

POŠKOZENÍ BUŇKY

adaptace

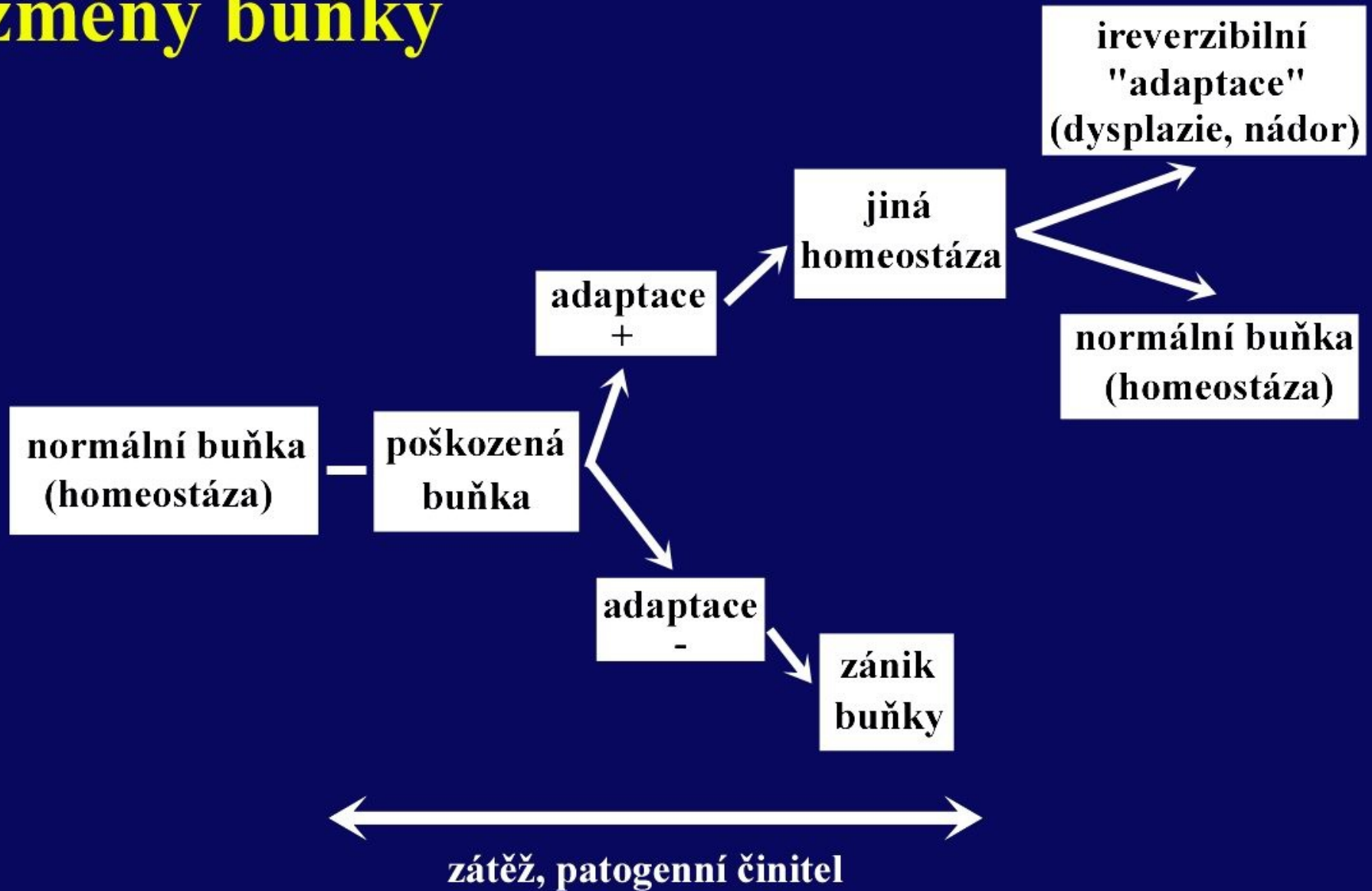
Reverzibilní poškození -----→ Nová rovnováha

adaptace ?

Ireverzibilní poškození -----→ Poškození nebo zánik

Adaptace může vést k novému rovnovážnému stavu pokud stupeň nebo doba alterace (poškození) buňky nedosáhne určité meze zvané **bod odkud není návratu**. Pokud tuto hranici/hodnotu překročí, adaptace vede k poškození buňky nebo jejímu zániku.

Reverzibilní a ireverzibilní změny buňky



PŘÍČINY POŠKOZENÍ BUŇKY

(=prakticky totožné s příčinami nemocí=)

Snížený přísun kyslíku

má za následek hypoxii nebo ischemii.

Fyzikální příčiny

Změny teploty oběma směry, UV záření, RTG, elektrická energie

Chemické látky, drogy

Fyziologicky normální molekuly v toxických koncentracích (kyslík, glukosa, voda) narušujících „steady state“

Drogy a jedy: As, CN, Hg, instekticidy, herbicidy, Asbest, CO, léky, alkohol

Infekční agens

Genetické vlivy

Nutriční nerovnováha

MECHANIZMY BUNĚČNÉHO POŠKOZENÍ

Toxické faktory

Kyslík, hypoxie, ischemie

Deplece ATP

Porušení Ca homeostázy

Poškození mitochondrií

Poškození
membrán

Poškození bariéry mezi buňkou a
okolím nebo mezi buněčnými
oddíly (funkce plotu)

Poškození permeability
(funkce vrátek)

Kyslík a z něho vznikající volné radikály

Kritická role kyslíku při buněčném poškození se uplatní dvojitým způsobem:

(A) nedostatek kyslíku vede k **hypoxii či ischemii**. Příčiny: (1) narušený arteriální přítok, (2) váznoucí venosní odtok a (3) snížená kapacita krve pro přenos kyslíku (anemie, otrava CO, zpomalení krevního proudu při kardiálním selhávání)

(B) buňky generují energii redukcí molekulárního kyslíku na vodu. Během této reakce **zcela nezbytné pro normální homeostázu** vznikají malá množství částečně redukováných reaktivních forem kyslíku (ionty, volné **radikály**) jako meziprodukty mitochondriální respirace. Radikály vznikají i jinými mechanismy (viz reperfuze a chemické poškození buňky)

Hypoxie, ischemie, reperfuze

Hypoxie:

Snížené zásobení buněk krevním proudem přináší v první řadě **sníženou nabídku kyslíku**. Ta zpočátku snižuje **oxidativní fosforylaci**, zatím co glykolýza ještě může určitou dobu pokračovat.

Ischemie:

Trvale omezená až ustávající krevní perfuze působí úbytek substrátů pro glykolýzu – glykolytické substráty (glykogen) jsou postupně vyčerpány a **ustává i anaerobní produkce energie**.

Reperfuze

Obnovení krevního proudu tkáni poškozené hypoxií-ischemií, pokud je reverzibilní, může vést k **zotavení buňky**, avšak někdy i k jejímu zániku. Příčiny: vznik **toxických radikálů** po reoxygenaci, ty způsobí poruchu mitochondriální permeability se všemi důsledky. Předchozí ischemie je spojena i se zvýšenou **expresí cytokinů a adhezních molekul** hypoxickými parenchymovými a endoteliálními buňkami. Ty přitáhnou do postižené tkáně leukocyty a výsledný zánět prohloubí poškození buňky

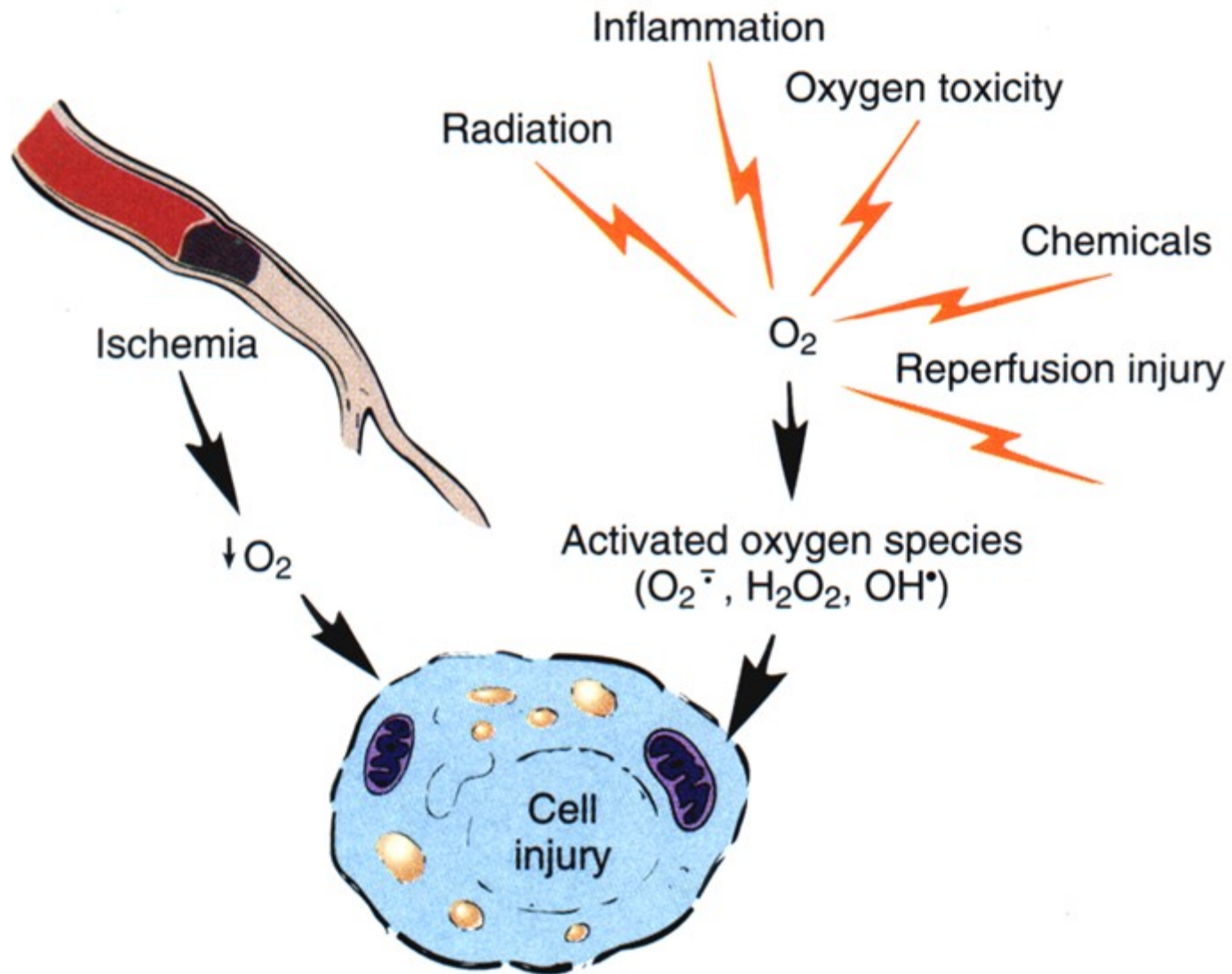


Figure 1-2

The critical role of oxygen in cell injury. Ischemia causes cell injury by reducing cellular oxygen supplies, whereas other stimuli, such as radiation, induce damage by toxic activated oxygen species.

Deplece ATP

ATP je substrátem pro všechny typy ATPáz k reakci

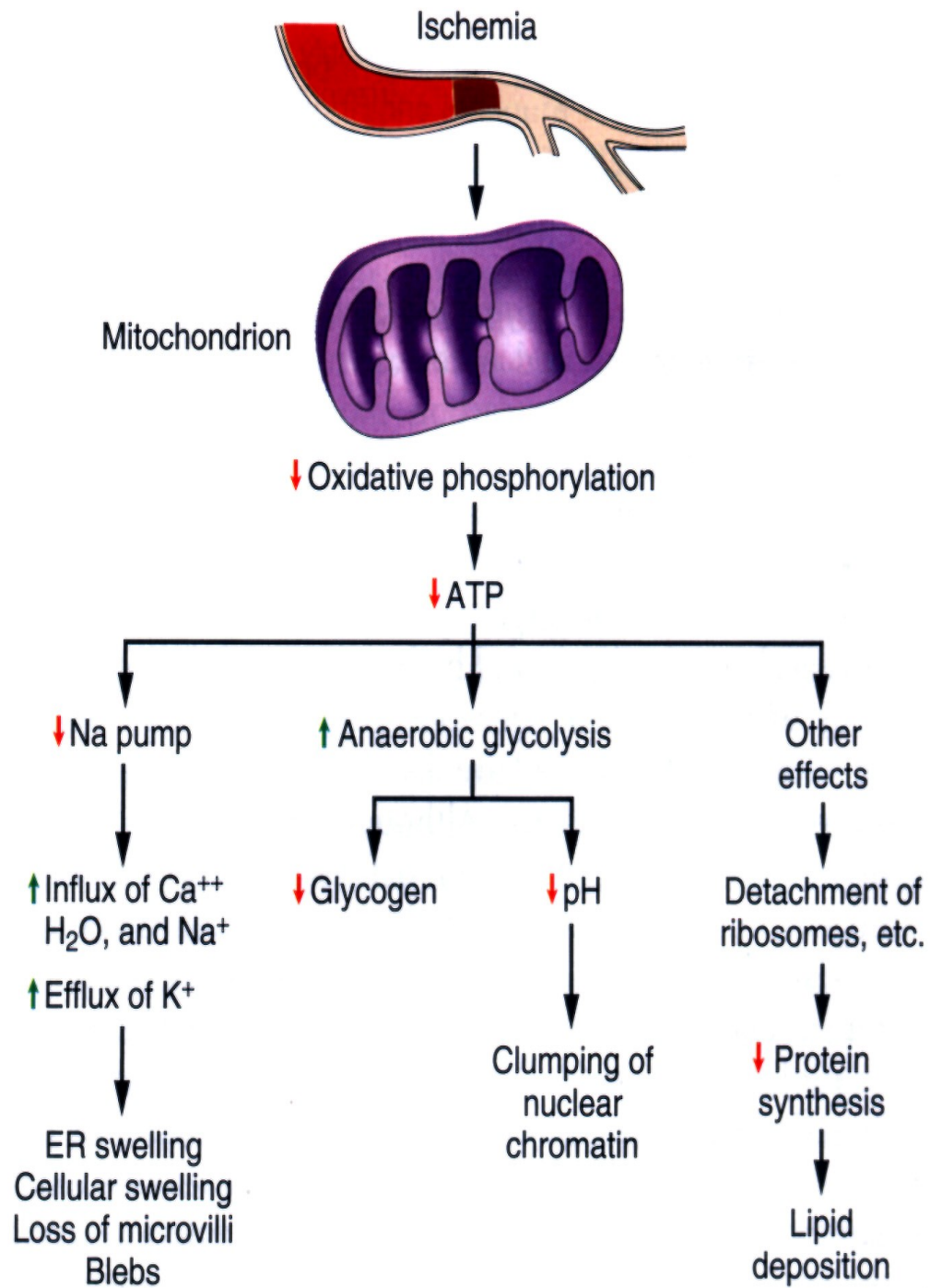


ATP je generován (1) oxidativní fosforylací ADP – redukcí kyslíku systémy elektronového přenosu v mitochondriích - a

(2) glykolýzou za nepřítomnosti kyslíku utilizací glykogenu, glukózy a derivátů.

ATP je nezbytný pro metabolické transporty, proteosyntézu, lipogenezu a deacylační-reacylační reakce nutné pro metabolismus fosfolipidů.

Deplece a snížená generace ATP jsou důsledky ischemického a toxického poškození buňky.



Intracelulární kalcium , kalciová homeostáza

Ca^{++} rovnováha mezi buňkou a extracelulární tekutinou nebo mezi intracelulárními kompartmenty (cytosol – mitochondrie) je udržována kalciovou ATPázou (Ca^{++} Mg^{++} -ATPázou).

Tato pumpa musí udržet obrovské koncentrační rozdíly mezi jmenovanými kompartmenty: intracelulární koncentrace Ca^{++} v cytosolu je 0.1 mikromolu zatím co extracelulárně dosahuje 1.3 mmolu.

Ischemie a toxické látky mohou poškodit tuto bariéru a způsobit influx kalcia plasmatickou membránou do buňky, i přestup Ca^{++} z mitochondrií a z ER. Zvýšená koncentrace kalcia v cytosolu aktivuje enzymy: **ATPázy** působí depleci ATP. **Fosfolipázy** způsobují poškození membrán rozkladem membránových fosfolipidů. Cytoplasmatické **proteázy** způsobují porušení membrán a cytoskeletálních komponent, **endonukleázy** fragmentaci chromatinu a **DNA-ázy** štěpení DNA.

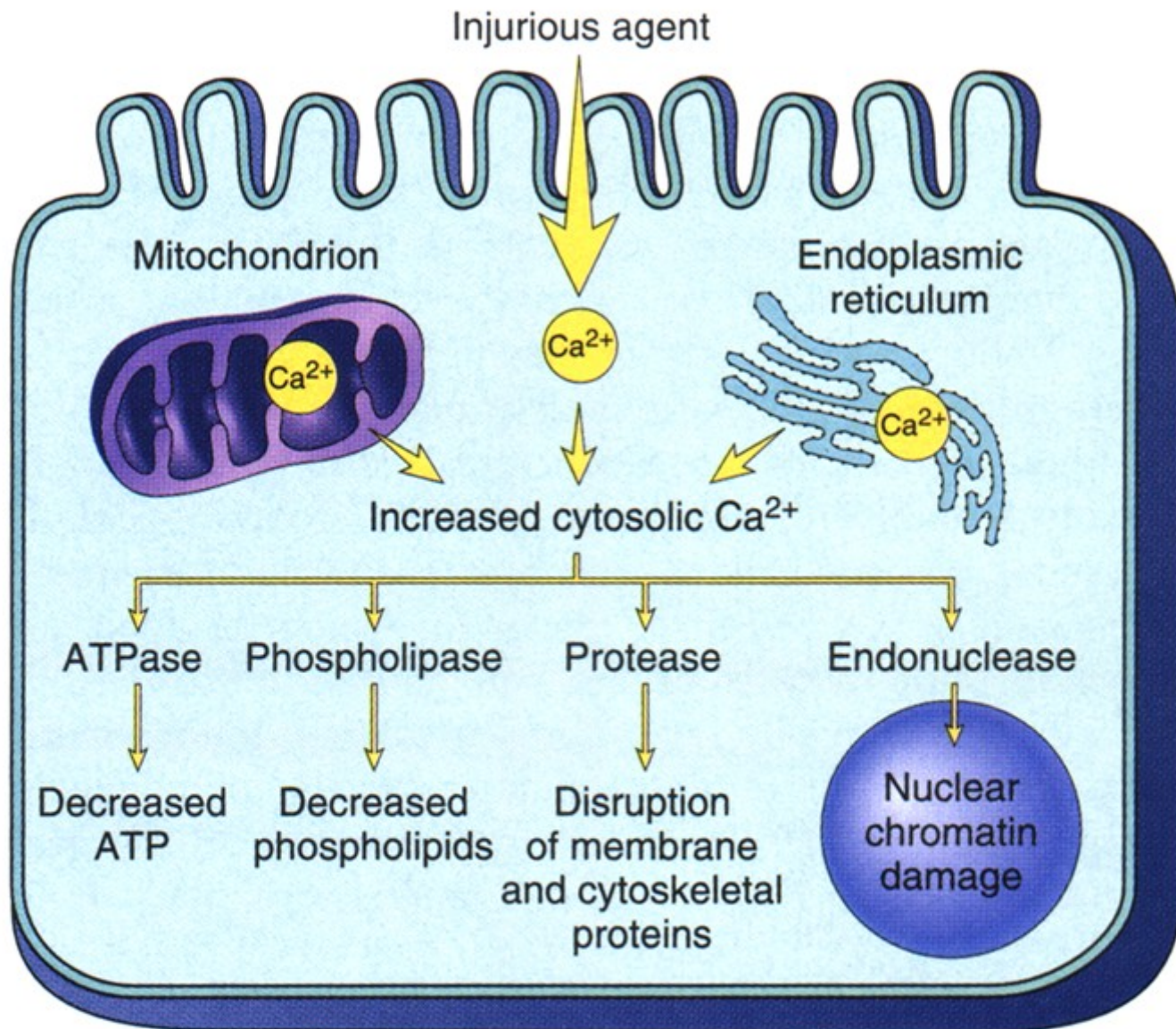


Figure 1-3

Sources and consequences of increased cytosolic calcium in cell injury. ATP, adenosine triphosphate.

Ireverzibilní mitochondriální poškození

Mitochondrie jsou hlavním terčem všech typů patologických stimulů. Sem patří hypoxie, toxiny, zvýšená koncentrace Ca^{++} v cytosolu, odbourání fosfolipidů (fosfolipáza A, sfingomyelinová cesta) stejně jako nahromaděné rozpadové produkty těchto lipidů (volné mastné kyseliny či ceramid). Tak se zvyšuje permeabilita vnitřních mitochondriálních membrán v nichž se tvoří jakési kanály a dochází k **úniku cytochromu C do cytosolu**. To je signálem vedoucím k **apoptotickému zániku buňky**.

Mitochondrial injury or dysfunction
(Increased cytosolic Ca^{2+} , oxidative stress,
lipid peroxidation)

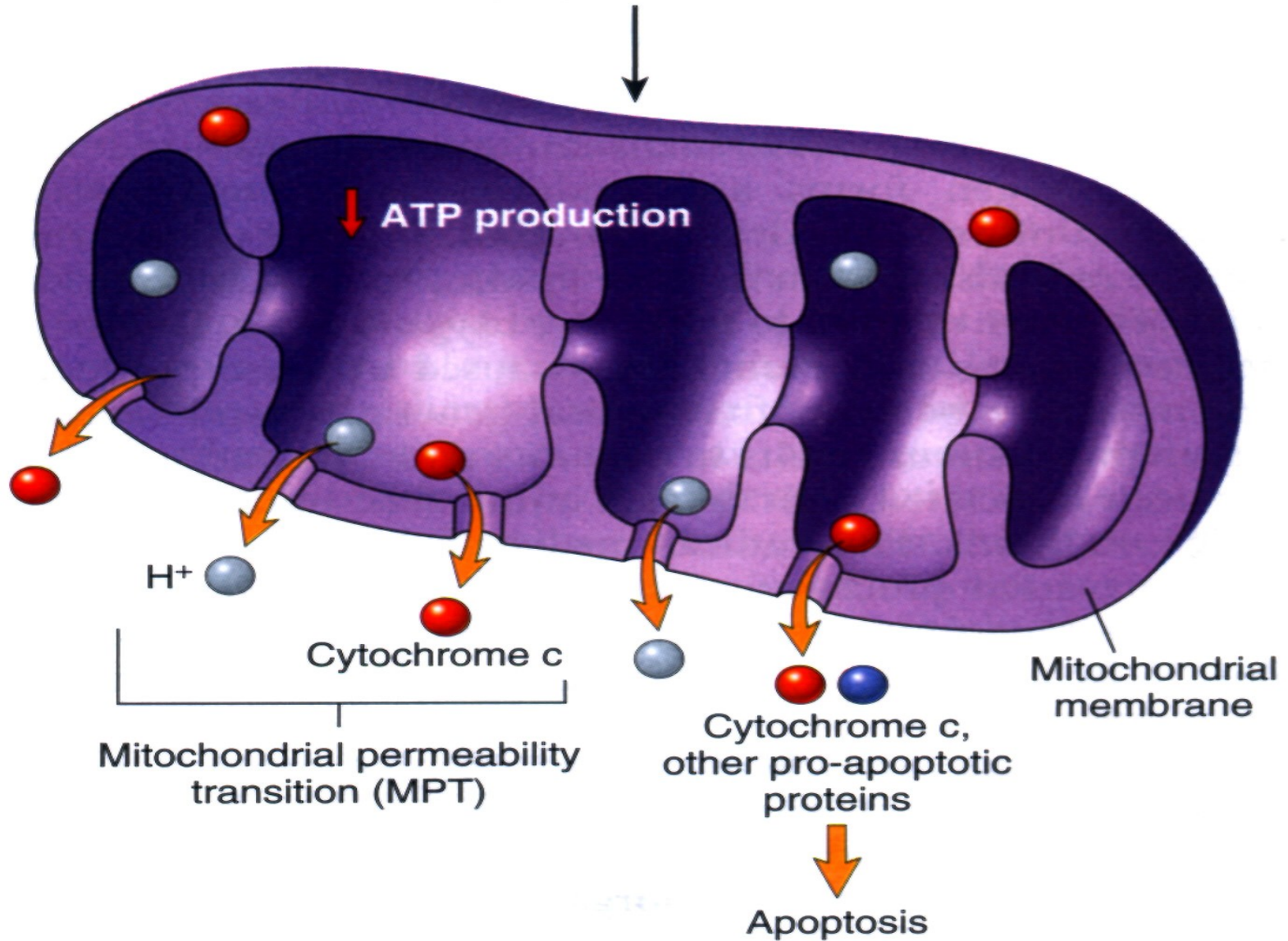
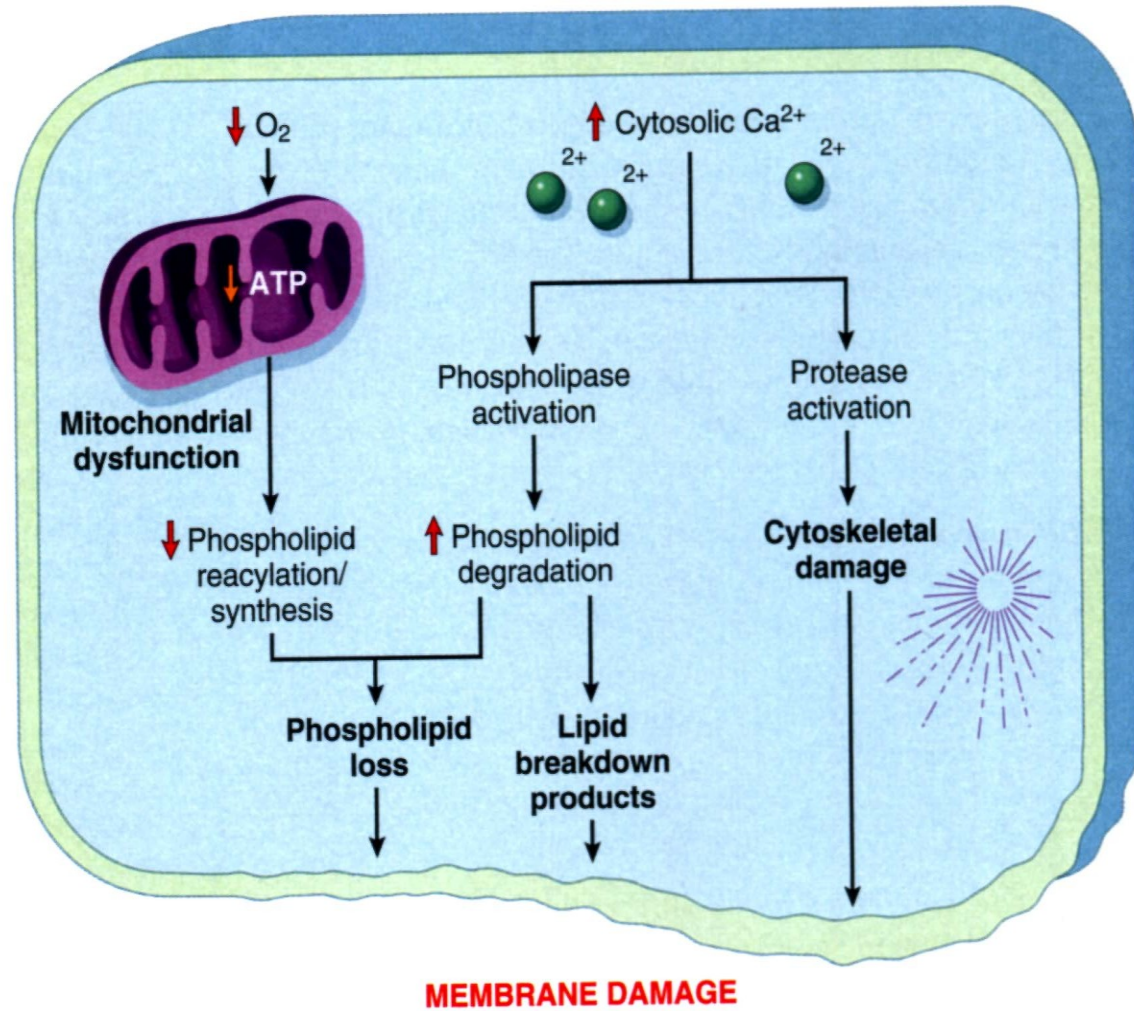


FIGURE 1-12 Mitochondrial dysfunction in cell injury.

FIGURE 1-15 Mechanisms of membrane damage in cell injury. Decreased O_2 and increased cytosolic Ca^{2+} are typically seen in ischemia but may accompany other forms of cell injury. Reactive oxygen species, which are often produced on reperfusion of ischemic tissues, also cause membrane damage (not shown).



Toxické faktory a chemické poškození buňky

se děje vazbou na molekulární složky organel:

HgCl₂ chlorid rtuťnatý

sublimát, se váže na SH- skupiny buněčné membrány a dalších proteinů, což vede ke zvýšené membránové permeabilitě a k inhibici transportu závislého na ATP (ledviny, GIT)

Kyanid Me^I CN

(např. KCN) blokuje mitochondriální COX

(cytochromoxidázu) a tím oxidativní fosforylaci

Phaloidin (*Ammanita phalloides*) se váže na aktinová filamenta

Jiné chemikálie (léky) musí být převedeny na metabolity, např. CCl₄

(viz následující obr) nebo acetaminophen (fenacetin) ve vysokých

dávkách mohou produkovat vysoce toxické radikály

Radikály

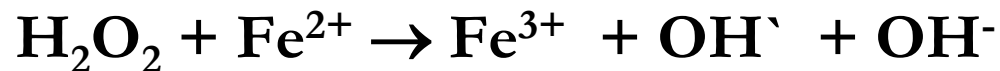
Volné radikály jsou chemická individua o nestabilní konfiguraci s nepárovým elektronem na vnější orbitě. Interakcí s proteiny, lipidy a karbohydráty se uvolní energie, někdy vznikají další radikály. Mohou být v buňkách generovány:

◆ **V průběhu normálních metabolických reakcí (zánět, fagocytóza, reperfruze) může vznikat superoxid O_2^- , ten aktivován SOD dá vznik peroxidu vodíku H_2O_2**

◆ **absorpcí radiační energie (UV, X-paprsky): Ionizační záření může hydrolýzovat vodu na vodíkové a hydroxylové radikály**

◆ **enzymatickým rozkladem exogenních chemikálií např. CCl_4 může skýtat CCl_3**

◆ **Přechodné kovy mohou předat nebo získat volné elektrony v průběhu intracelulárních reakcí a katalyzovat tvorbu radikálů: Fentonova reakce**



Radikály mohou způsobit :

Autooxidaci mastných kyselin přítomných v membránových fosfolipidech, přitom jsou tvořeny organické peroxidy.

Dekompozice lipidů působí rozpad ER (disociaci ribosomů od membrán ER), čímž ustává proteosyntéza. V hepatocytech chybějí apoproteiny ke komplexu s triglyceridy a FFA, výsledkem je steatosa jater.

Oxidativní modifikaci proteinů – oxidaci postranních řetězců polypeptidů, tvorbu příčných vazeb (SH - SS) mezi řetězci nebo oxidaci samotných polypeptidových řetězců vedoucí k jejich fragmentaci

Alterace DNA: reakcí s thyminem se vytvářejí jednoprovozcové úseky v DNA (buněčné stárnutí a maligní transformace)

Odstraňování radikálů z buněk lze provést několika systémy: může být spontánní, dále antioxidantia - E vitamin, Se, SH obsahující aminokyseliny, serové proteiny (albumin, ceruloplasmin, transferin) a enzymy – superoxid dismutáza, kataláza, glutathion-peroxidáza

Defekty membránové permeability

Všechny příčiny buněčného poškození nakonec vedou k alteraci membránových systémů. Navíc plasmatická membrána bývá poškozená bakterálními toxiny, virovými proteiny, složkami komplementu i produkty lymfocytů (perforiny).

Uvedené metabolické dráhy se vzájemně kombinují a vedou k reverzibilnímu nebo i ireverzibilnímu poškození buňky.

Následující model reverzibilního a ireverzibilního poškození buňky vychází z nedostatečného přísunu kyslíku

Průběh reverzibilního poškození buňky

Snížená tenze kyslíku přináší v první řadě ztrátu oxidativní fosforylace v mitochondriích se sníženou generací ATP (viz výše).

Deplece ATP (1) snižuje účinnost sodíkové pumpy (membránová- Na^+K^+ -ATPáza (ATP je substrátem pro tuto ATPázu)

Zhroucení sodíkové pumpy vede k difuzi kalia z buňky a intracelulární akumulaci sodíku a vody → zduření buněk, dilatace ER, oddělení ribosomů od membrán ER

Deplece ATP též (2) stimuluje fosforylázu a fosfo-frukto-kinázu, což vede ke zvýšené glykolýze.

Hromadění metabolitů glykolýzy → zvýšení osmotického tlaku v buňce (další podnět ke zduření buněčných h struktur), zvýšená laktacie s poklesem pH.

Po depleci zásob glykogenu se úroveň glykolýzy rychle snižuje. Morfologické změny: zduření mitochondrií a ER, výchlípky buněčné membrány, myelinové figury.

Průběh ireverzibilního poškození buňky

Pokračující **POŠKOZENÍ MEMBRÁN**, změny jejich permeability, další zduření a rozpad mitochondrií, pak lyzozomů.

Zvýšený tok kalcia do buňky a do **MITOCHONDRIÍ** s aktivací proteáz a fosfolipáz → akumulace FFA (volných mastných kyselin).

Produkty štěpení lipidů – FFA, acyl-karnitin a lysofosfolipidy – dále mění permeabilitu membrán a únik cytochromu C z mitochondrií

Cytoskeletální abnormity: aktivace proteáz kalciumem poškozuje cytoskeletální proteiny s jejich oddálením od buněčné membrány.

Zduření **LYZOSOMŮ** a ruptura jejich membrán → únik lyzozomálních enzymů do cytoplasmy a následující rozpad a destrukce všech buněčných struktur (včetně cytoskeletu) vedoucí ke konečnému zániku buňky. Ztráty proteinů, enzymů, koenzymů a RNA přes hyperpermeabilní buněčnou membránu

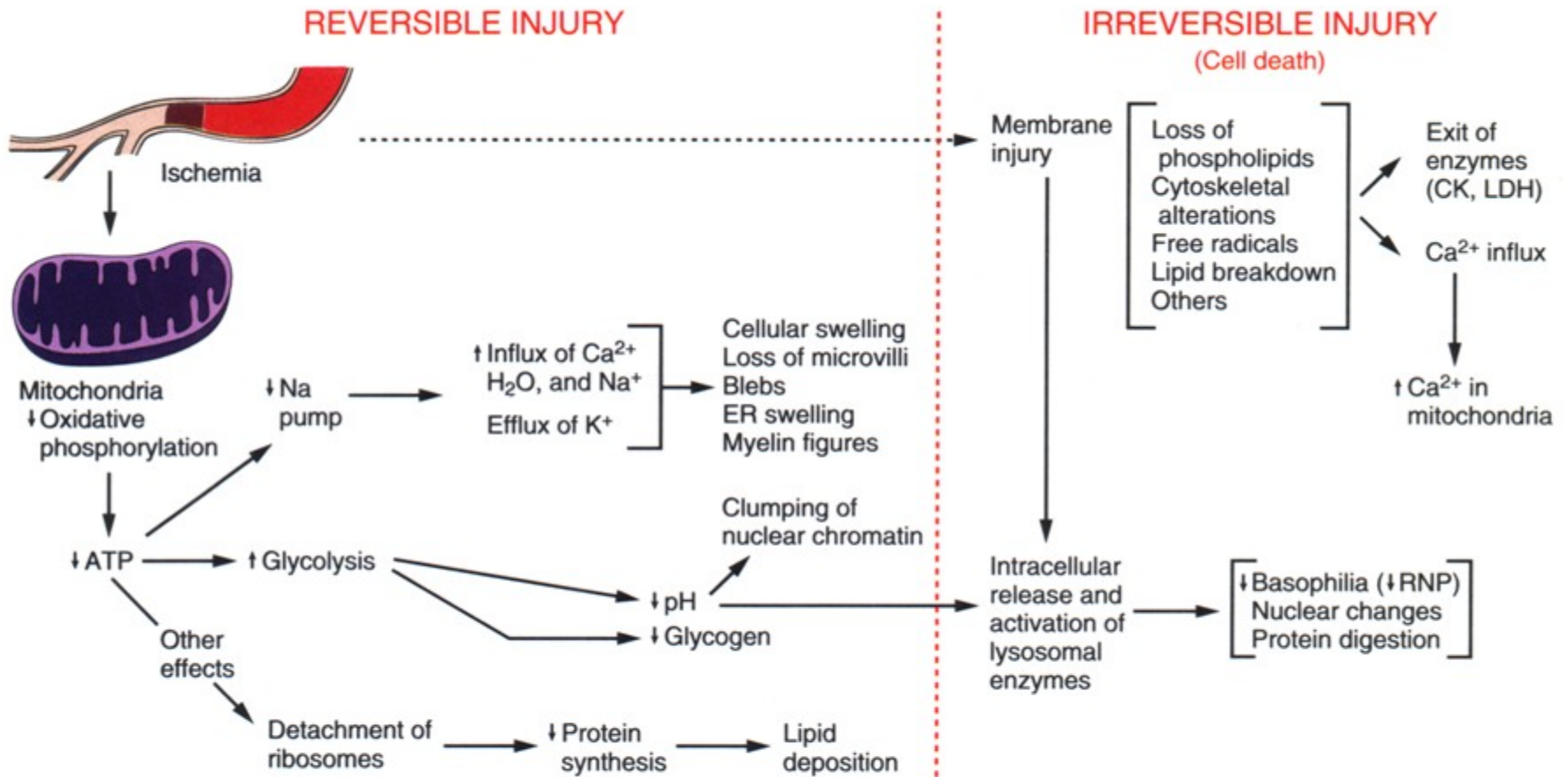
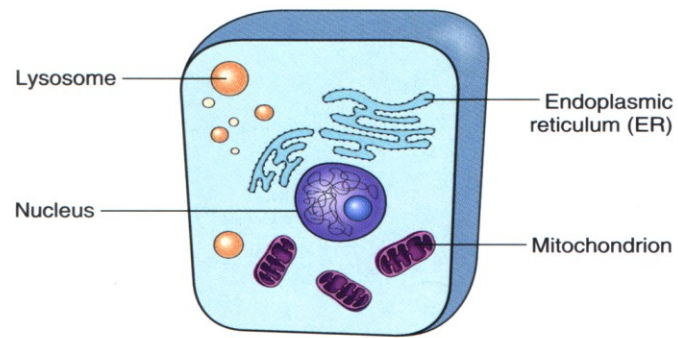
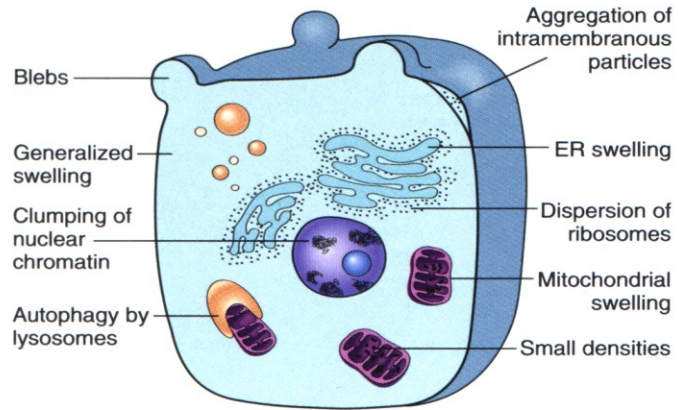


Figure 1-5

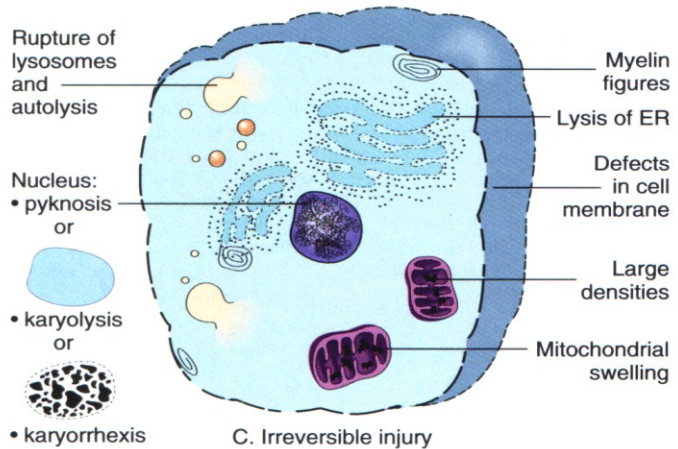
Postulated sequence of events in ischemic injury. Note that although reduced oxidative phosphorylation and ATP levels have a central role, ischemia can cause direct membrane damage. ER, endoplasmic reticulum; CK, creatine kinase; LDH, lactate dehydrogenase; RNP, ribonucleoprotein.



A. Normal cell



B. Reversible injury



C. Irreversible injury

Figure 1-6

Schematic representation of a normal cell (A) and the ultrastructural changes in reversible (B) and irreversible (C) cell injury (see text).

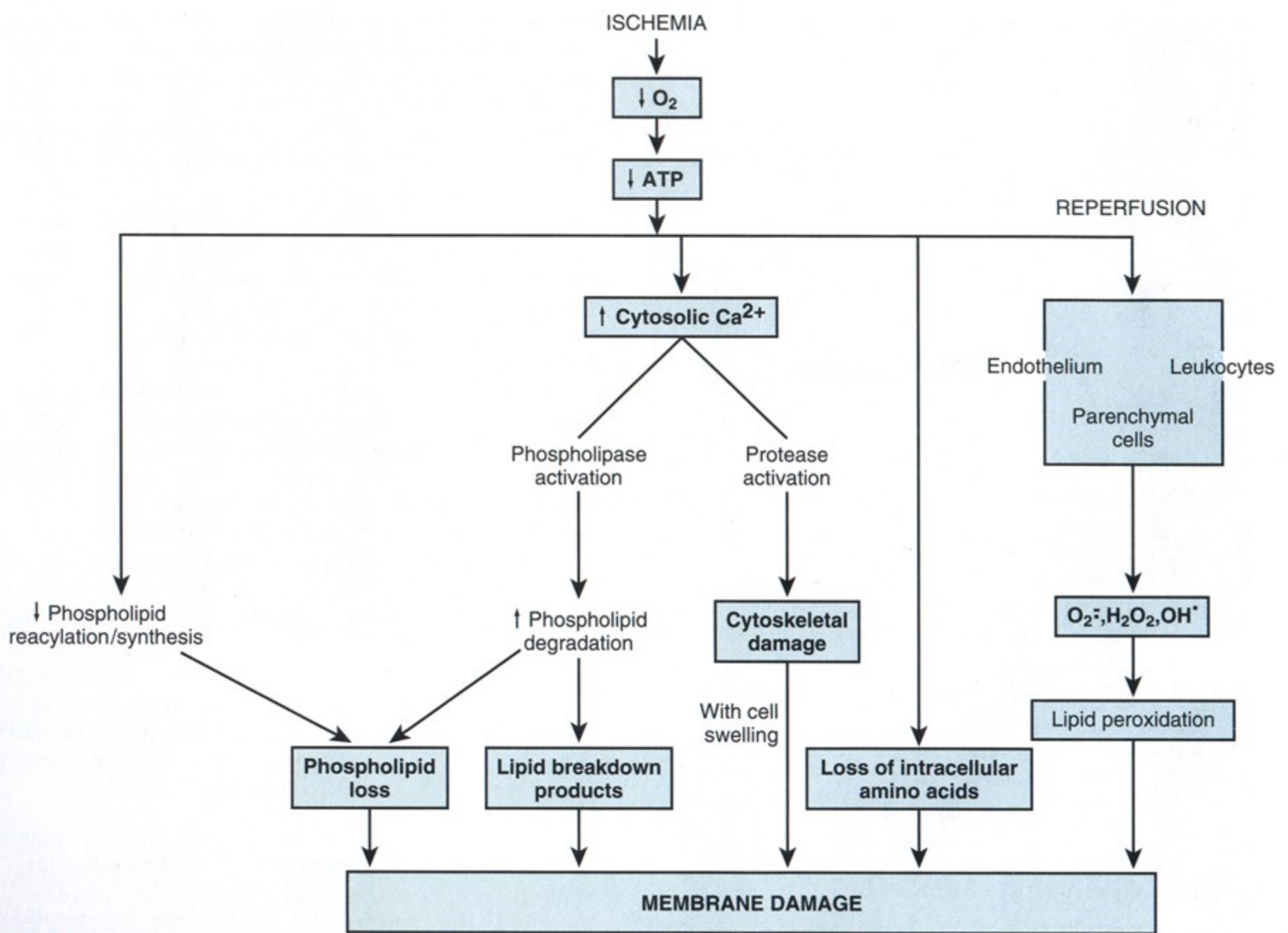
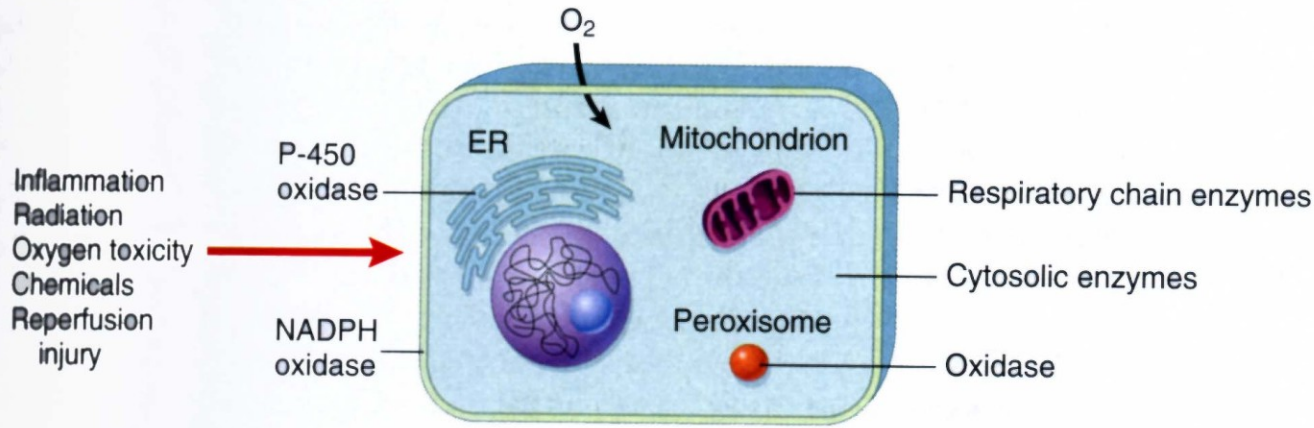


Figure 1-8

Mechanisms of membrane damage in ischemia and reperfusion.

A. FREE RADICAL GENERATION

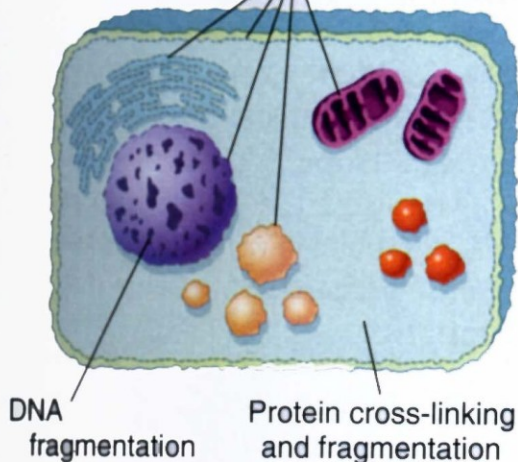


Reactive oxygen species:
 $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot}

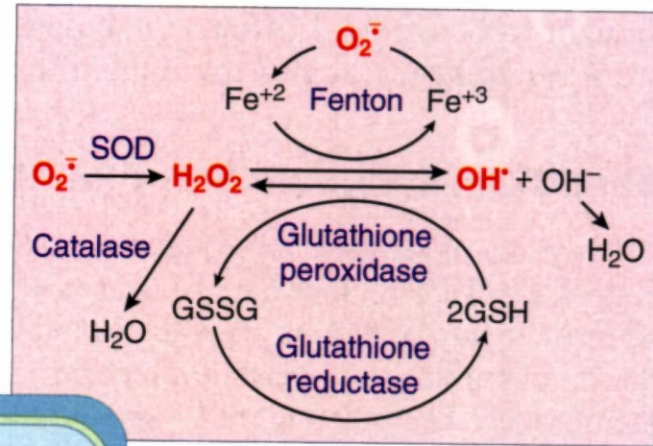
Reactive oxygen species:
 $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot}

Membrane lipid peroxidation

All membranes
 • Vitamins E and A
 • β -carotene



Cytosol
 • SOD
 • Vitamin C
 • Glutathione peroxidase
 • Ferritin
 • Ceruloplasmin



Mitochondria
 • SOD
 • Glutathione peroxidase

Peroxisomes
 • Catalase

B. CELL INJURY BY FREE RADICALS

C. NEUTRALIZATION OF FREE RADICALS – NO CELL INJURY

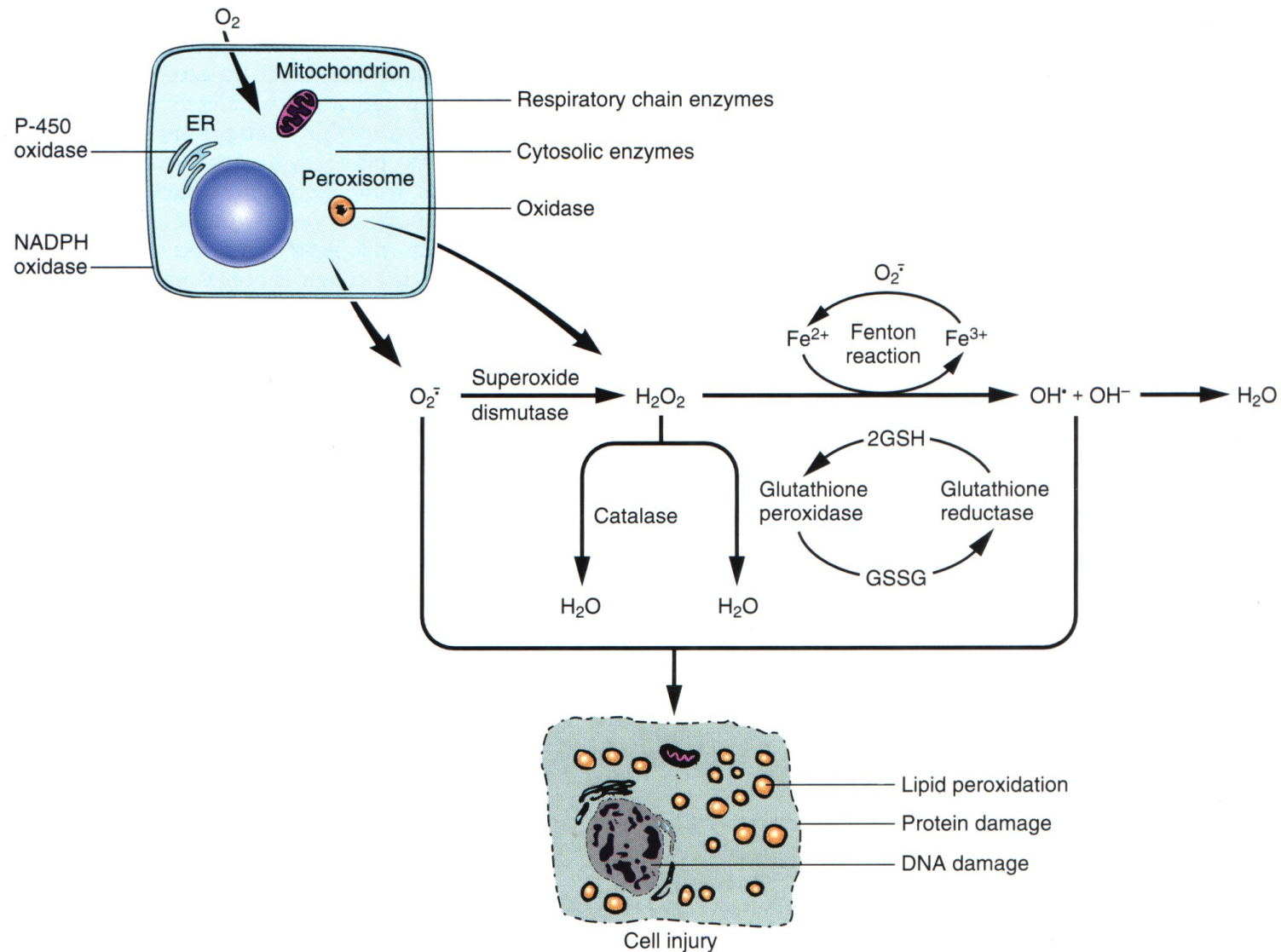


Figure 1-9

Formation of reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in biologic systems. O_2 is converted to superoxide ($O_2^{\cdot -}$) by oxidative enzymes in the endoplasmic reticulum (ER), mitochondria, plasma membrane, peroxisomes, and cytosol. $O_2^{\cdot -}$ is converted to H_2O_2 by dismutation and thence to OH^{\cdot} by the Cu^{2+}/Fe^{2+} -catalyzed Fenton reaction. H_2O_2 is also derived directly from oxidases in peroxisomes. Not shown is another potentially injurious radical, singlet oxygen. Resultant free radical damage to lipid (peroxidation), proteins, and DNA leads to various forms of cell injury. Note that superoxide catalyzes the reduction of Fe^{3+} to Fe^{2+} , thus enhancing OH^{\cdot} generation by the Fenton reaction. The major antioxidant enzymes are superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase. GSH, reduced glutathione; GSSG, oxidized glutathione; NADPH, reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

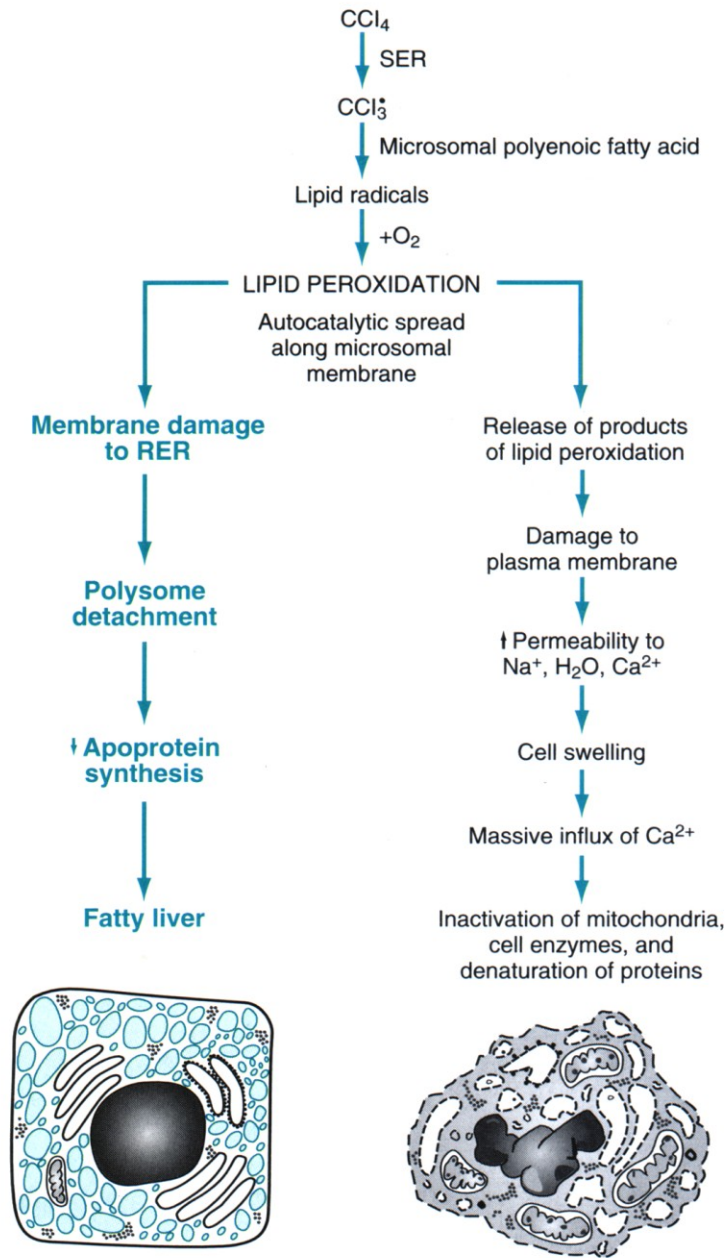


Figure 1-11

Sequence of events leading to fatty change and cell necrosis in carbon tetrachloride (CCl_4) toxicity. RER, rough endoplasmic reticulum; SER, smooth endoplasmic reticulum.

ZÁNİK BUŇKY

Definice

Atria mortis

Známky smrti

Dva základní procesy a výslednice ireverzibilního poškození buňky vedoucí k jejímu zániku: nekróza a apoptóza.

NEKRÓZA

zahrnuje celé spektrum morfologických změn, které nastupují během a po zániku buňky v živé tkáni. Jsou způsobeny denaturací proteinů a degradačním účinkem enzymů na proteiny a buněčné struktury. Denaturace proteinů znamená ztrátu jejich terciární struktury, při kterém rozbalené polypeptidové řetězce vystavují skupiny dříve stericky skryté, a tak se mění (většinou zvyšuje) jejich reaktivita. Snížení pH zanikající buňky je významné v iniciaci denaturace. Protože k němu dochází již v průběhu poškození buňky, nezačíná tento proces až po jejím zániku. I proteolýza začíná už intravitálně

KOAGULAČNÍ NEKRÓZA

- . **Proteolytické enzymy pocházejí buď z lyzosomů samotné buňky (autolýza), nebo z lyzosomů vniknuvších leukocytů a histiocytů (heterolýza).**

Denaturace proteinů však má i protektivní účinek na buněčné struktury.

Pozastavuje autolýzu **inaktivací enzymů a odstraňováním jejich substrátů**. Omezení digesce proteinů také oddálí produkci peptidů vyvolávajících akutní zánětlivou reakci . Nekróza je tedy stavem

následujícím po zániku buňky. Tyto pochody trvají několik hodin, takže nekróza není bezprostředně postižitelná. Popsané změny jsou charakteristické pro tzv. **koagulační nekrózu**. Protože její součástí je i zduření buňky, byl pro buněčnou nekrózu navržen název onkóza.

Příklad: infarkt myokardu

Makroskopický nález

Bezprostřední nález: beze změn

1 den: vzhled poraženého masa

3 – 5 dní: nažloutlá „jílovitá“ barva s hemoragickým okrajem, nebo červené zbarvení

8 - další: postupné šednutí ložiska

6 – 8 týdnů: bělavá jizva

Histologický a histochemický nález

Bezprostředně: beze změn

3 – 6 hodin: tetrazoliová reakce (NBT) – ztráta mitochondriálních dehydrogenáz, ztráta glykogenu a glykogen-dependentní Pházy, v přehledném barvení H&E beze změn

6 – 8 hodin: intersticiální edém

12 – 24 hodin: jádra postupně blednou – vymizí, zvýšená eosinofilie plasmy

24 – 72 hodin: reaktivní změny: infiltrace makro- a mikrofágy (leukocyty, později histiocyty k odstranění nekrotických hmot)

3 – 7 den: postupné odstranění nekrotických hmot

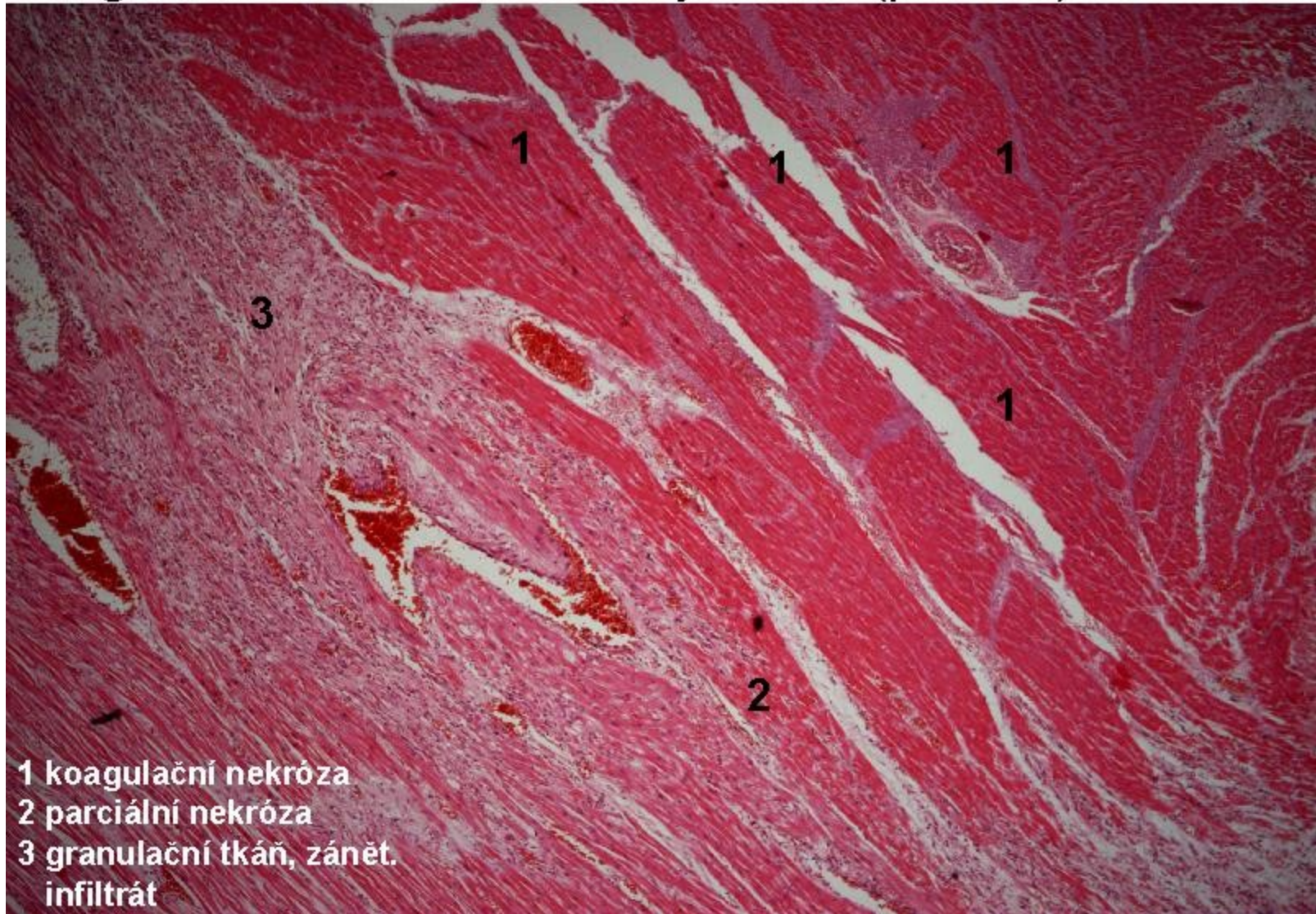
5 – 7 den: granulační tkáň s cévami a fibroblasty, ==> kolagenní vlákna

6 týdnů: jizva

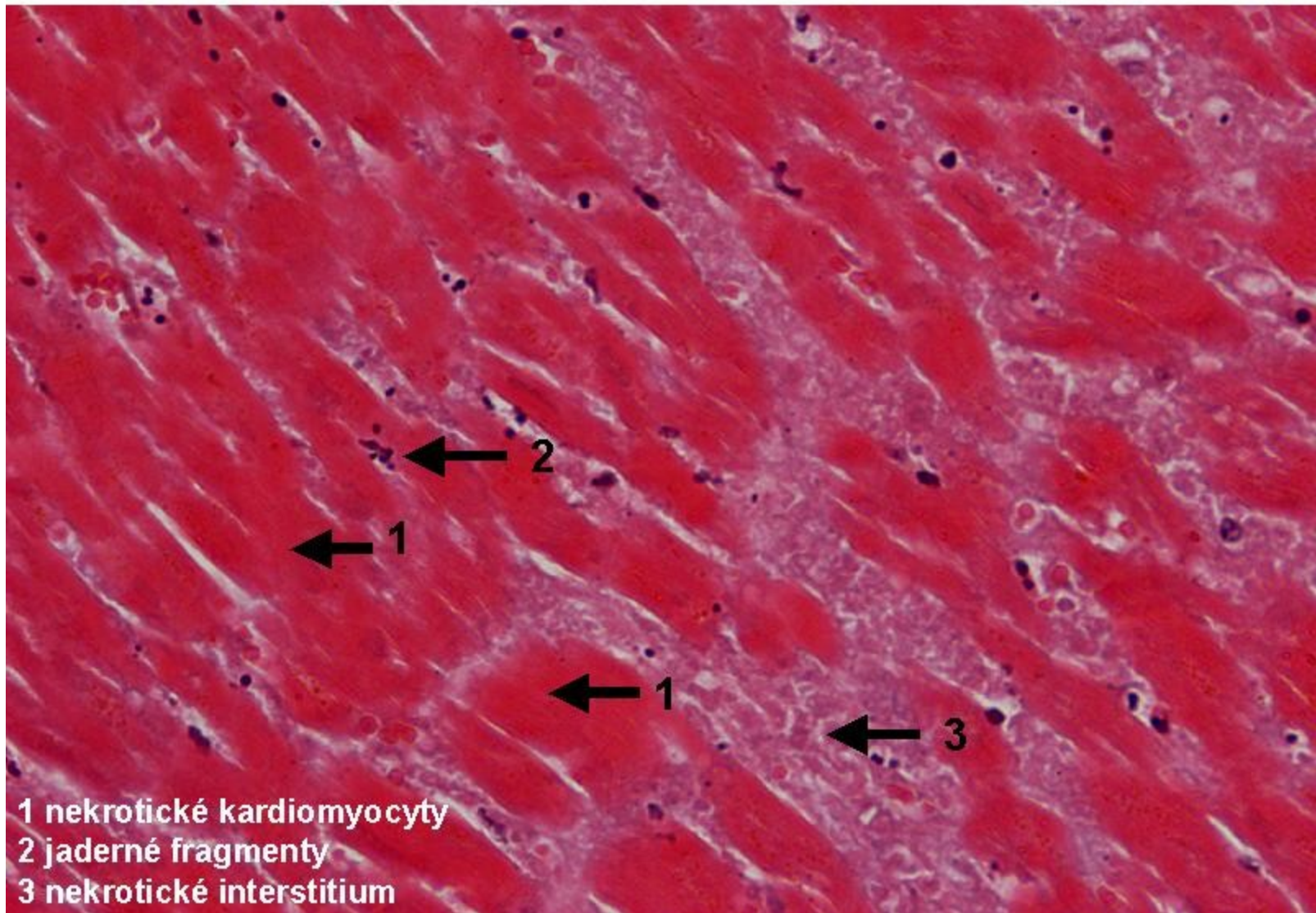
koagulační nekróza-infarkt myokardu



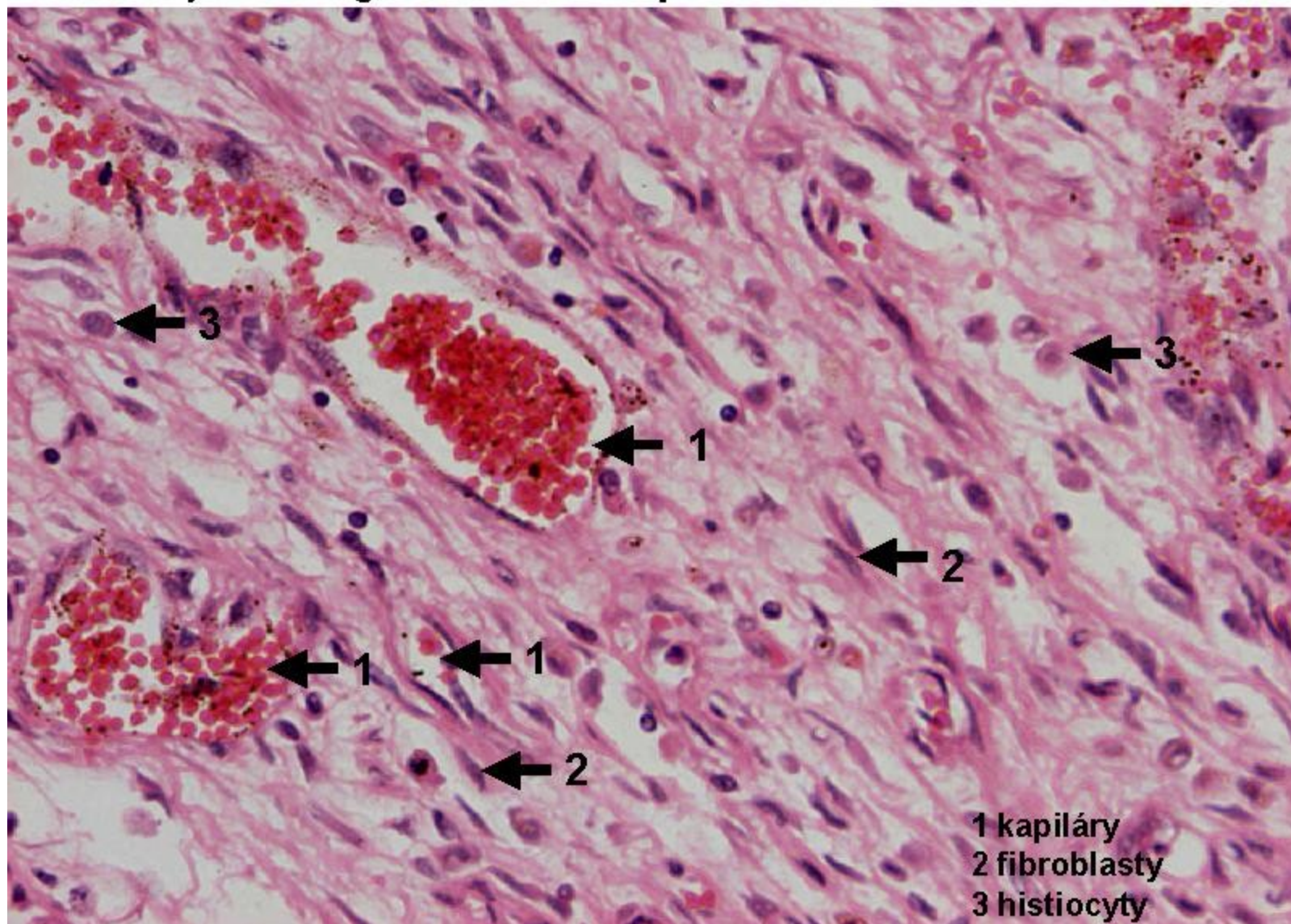
koagulační nekrosa-infarkt myokardu (přehled)



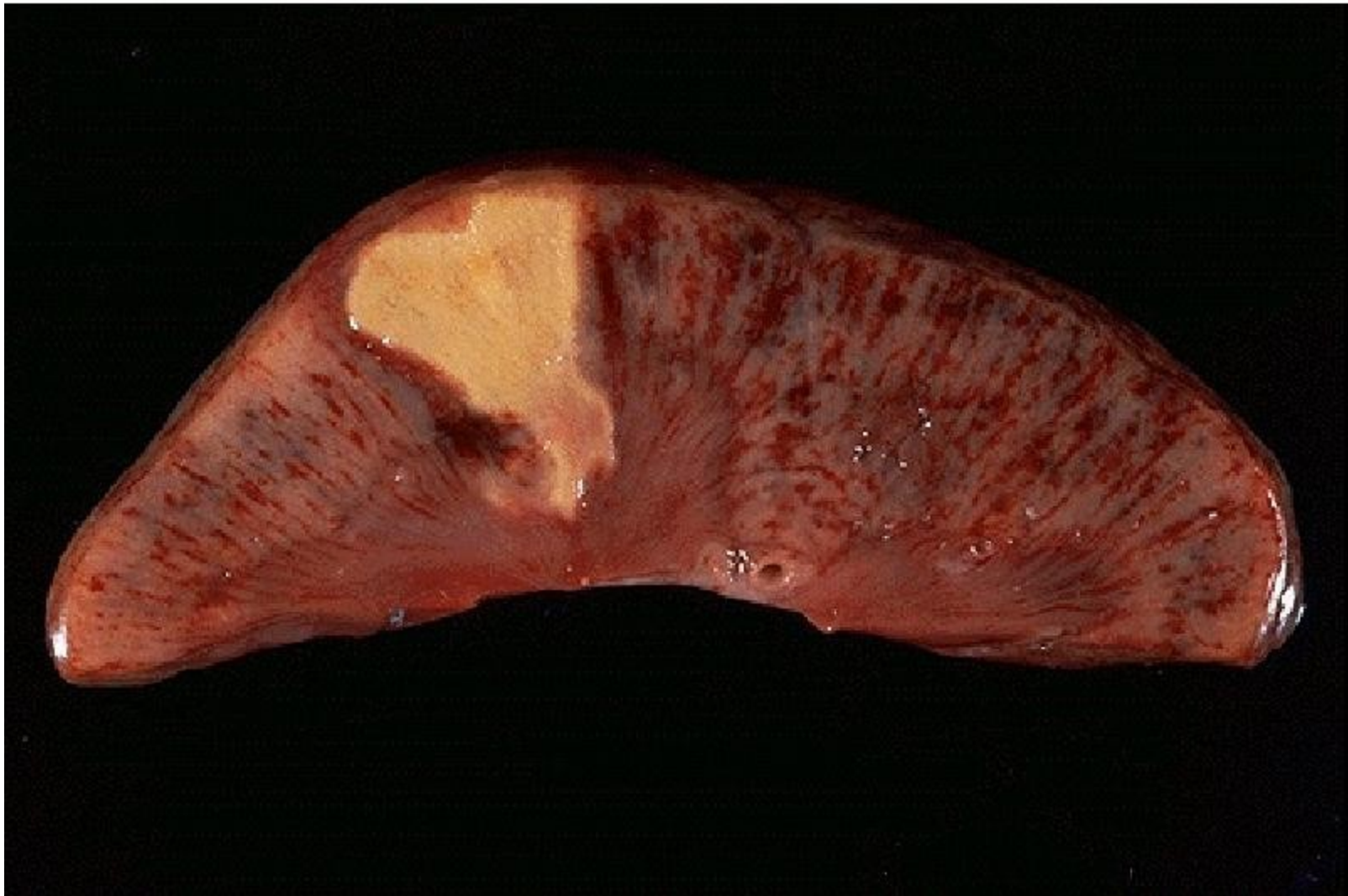
koagulační nekróza-infark myokardu



infarkt myokardu-granulační tkáň-jizvení



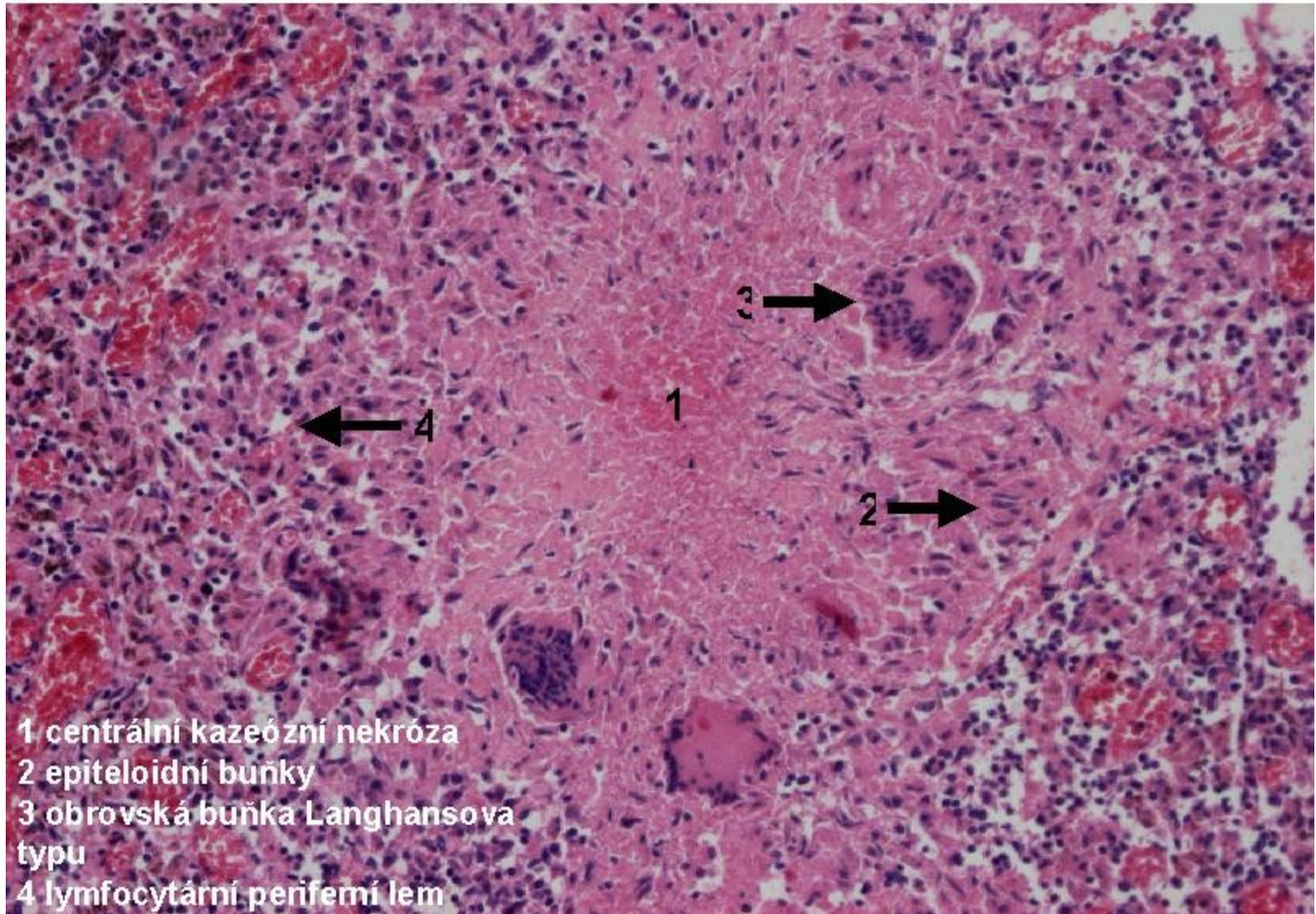
koagulační nekróza-infarkt ledviny



Kaseozní nekróza

Kaseozní (sýrová) nekroza je vázaná na chronické zánětlivé procesy, ve kterých dominuje buněčný typ hypersensitivity. Vyskytuje se u infekcí způsobených Mykobacteriem tuberculosis, ale i u mykotických infekcí a lues. Tkáň má podle názvu zrnitý a nažloutlý vzhled s bazofilním popraškem – ze zbytků jader. Nekrotická tkáň má zásadně dvojí osud: pokud dojde k likvidaci infekce, kaseosní nekroza **persistuje** a posléze **kalcifikuje** (rtg vyšetření). **Persistence kaseosní nekrozy se vysvětluje inhibičním účinkem glykolipidních složek mykobakterií na proteázy.** V opačném případě, např. pokud dojde k aktivaci infekce, nastává totální rozpad tkáně **zkapalněním** způsobeným heterolytickou digescí imigrovaných polynukleárů do ložiska (viz následující oddíl).

kazeózní nekróza-lymfatická uzlina-TBC uzlík, Langhansovy buňky



- 1 centrální kazeózní nekróza
- 2 epiteloidní buňky
- 3 obrovská buňka Langhansova typu
- 4 lymfocytární periferní lem

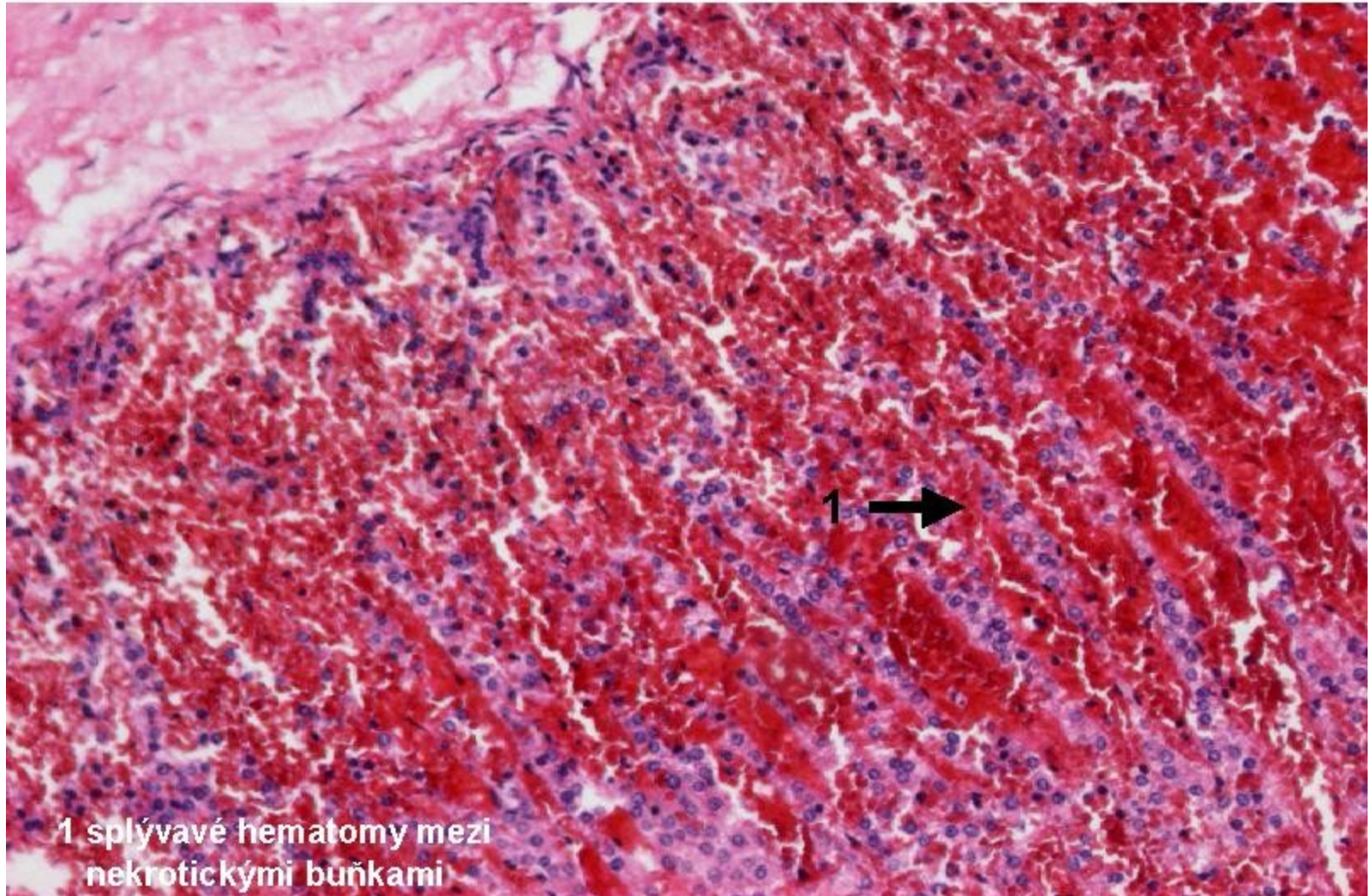
Hemoragická nekróza

- Variantou koagulační nekrózy je **nekroza hemoragická**. Bývá spojená s masivním prokrvácením nekrotické tkáně. Příčinou může být masivní žilní trombóza s následným kapilárním přetlakem, který vede k disrupci kapilár a zástavě oběhu. Dalším mechanismem hemoragické složky je podtlak ve tkáňovém okrsku, jehož přívodná konečná arterie byla uzavřena a nastává reflux z kapilárně-venosního řečiště okolní tkáně. Příklady mohou být červená encefalomalacie nebo plicní infarkt. Vzácnějším mechanismem je masivní toxická nekróza kapilár v průběhu hemoragicko-nekrotických zánětů (klostridie, mor)

hemoragická nekróza-nadledviny



hemoragická nekróza-nadledvina, Waterhouse-
Friderichsenův syndrom, prokrvácení zóna fascikulata



1 splývavé hematomy mezi
nekrotickými buňkami

Likvefakční nekróza

- **Kolikvační či likvefakční nekróza** je charakterizovaná enzymatickým rozkladem tkáně vedoucím k rozpadu všech struktur až ke zkapalnění. Podmínkou je masivní autolytická a hlavně heterolytická **enzymová** aktivita. Kolikvační nekrosa vzniká často v rámci zánětlivých procesů (bakteriální záněty, mykozy), kdy k dekompozici tkáně přispívá přítomnost granulocytů s vysokým obsahem proteáz. Likvefakční nekróza je častá ve **tkáních chudých na bílkoviny**, snadno degradovatelných, např. v bílé hmotě mozkové. Výsledkem rozsáhlé enzymatické digesce (natrávení) tkáně je vznik patologické dutiny, pseudocysty. Klasickým příkladem je encefalomalacie, která po likvidaci tkáňového detritu aktivovanou mikroglíí dá vznik postmalatické pseudocystě.

kolikvační nekróza-mozkový infarkt



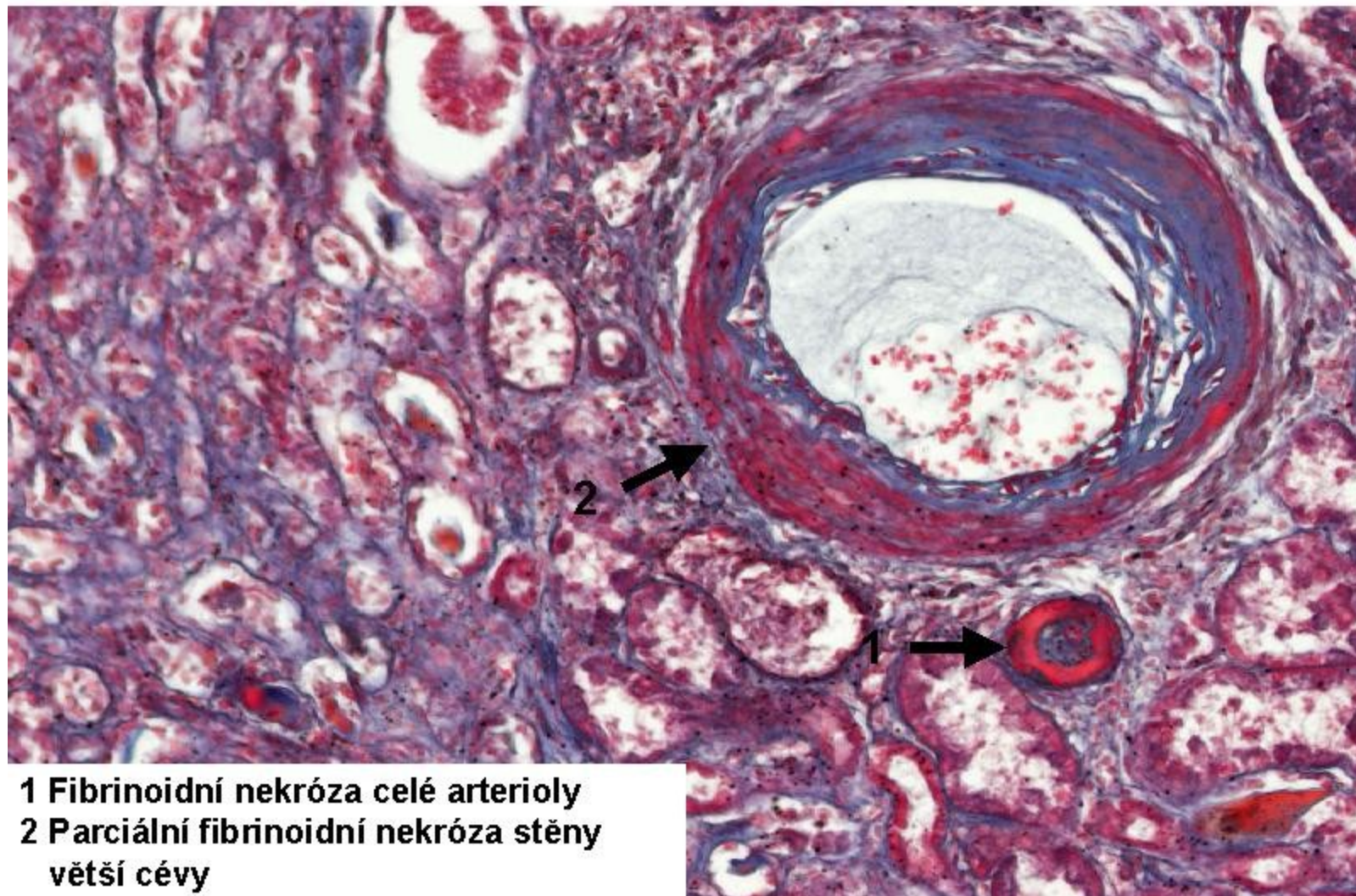
kolikvační nekróza-mozkový infarkt, zrněčkové (úklidové) buňky



Fibrinoidní nekróza (dystrofie)

- Fibrinoidní nekróza (dystrofie, degenerace) je **změna vazivové tkáně v jejíž patogeneze se uplatní imunitní ataka** v důsledku reakce s protilátkou nebo při depozici imunitních komplexů, tedy hypersensitivní reakce druhého a třetího typu. Aktivace komplementu a atrakce leukocytů s jejich následným rozpadem uvolní kvanta proteolytických i dalších hydrolytických enzymů, které odbourávají kolagen; ložisko je prostoupeno **zánětlivým exsudátem bohatým na serové proteiny, včetně fibrinogenu**. Barvením na fibrin tedy lze ložisko dobře znázornit. Choroby spojené s obdobným typem změn se nazývají kolagenózy, nověji difusní onemocnění pojiva. Příkladem mohou být imunokomplexové vaskulitidy.
- Vaskulární fibrinoidní nekróza vzniká průnikem plasmatických proteinů poškozeným endotelem do cévní stěny. Příkladem je plasmorhagie při maligní hypertenzi nebo u polyarteriitis nodosa.

18. Fibrinoidní nekróza-arteriitís, Malloryho trichrom.



Nekróza tukové tkáně

Gangréna

- **Nekróza tukové tkáně** není zvláštním typem nekrózy, ale okřskovitou destrukcí tukové tkáně v důsledku uvolnění pankreatických enzymů do postižené oblasti pankreatu nebo do peritoneální dutiny. Aktivované pankreatické enzymy unikají z pankreatických acinů a ductů, destruuji buněčné membrány a aktivované lipázy štěpí triglyceridové estery. Na uvolněné mastné kyseliny se váže kalcium a tak vznikají křídovitě bílé okrsky, dobře viditelné i pouhým okem.
- **Gangréna** je nekróza modifikovaná druhotnými změnami. Suchá gangréna či mumifikace je nekróza modifikovaná vyschnutím, Je častá na končetinách po cévním uzávěru. Kůže postižené oblasti má pergamenovitý vzhled. Vlhká gangréna je charakteristická sekundární infekcí navazující na koagulační nekrózu. Ta působí kolikvaci postižené tkáně (viz výše). Gangrénou bývá často postižena dolní končetina po ztrátě krevního zásobení

APOPTÓZA

Biologické a patologické stavy vedoucí k apoptóze

→ **Apoptotické procesy v jádře, cytoplasmě a na buněčné**

membráně

→ **Signály spouštějící apoptotické mechanismy (membrána, jádro, mitochondrie, ER)**

→ **Nitrobuněčná propagace apoptotického signálu**

→ **Efektory apoptózy, reakce okolní**

Definice: programovaný zánik buňky sloužící k eliminaci nadbytečných bb

Nastává: během **vývoje**, v **dospělosti** involuce způsobená působením hormonálních vlivů (menstruační cyklus, mamma lactans-non lactans), eliminace proliferujících bb (střevo), **za patologických okolností** v nádorech, při a po zánětech (leukocyty), zánik imunních elementů po depleci cytokinů, zánik bb vyvolaný cytotoxickými T lfc, reakce na škodlivé stimuly (záření, hypoxie, teplo)

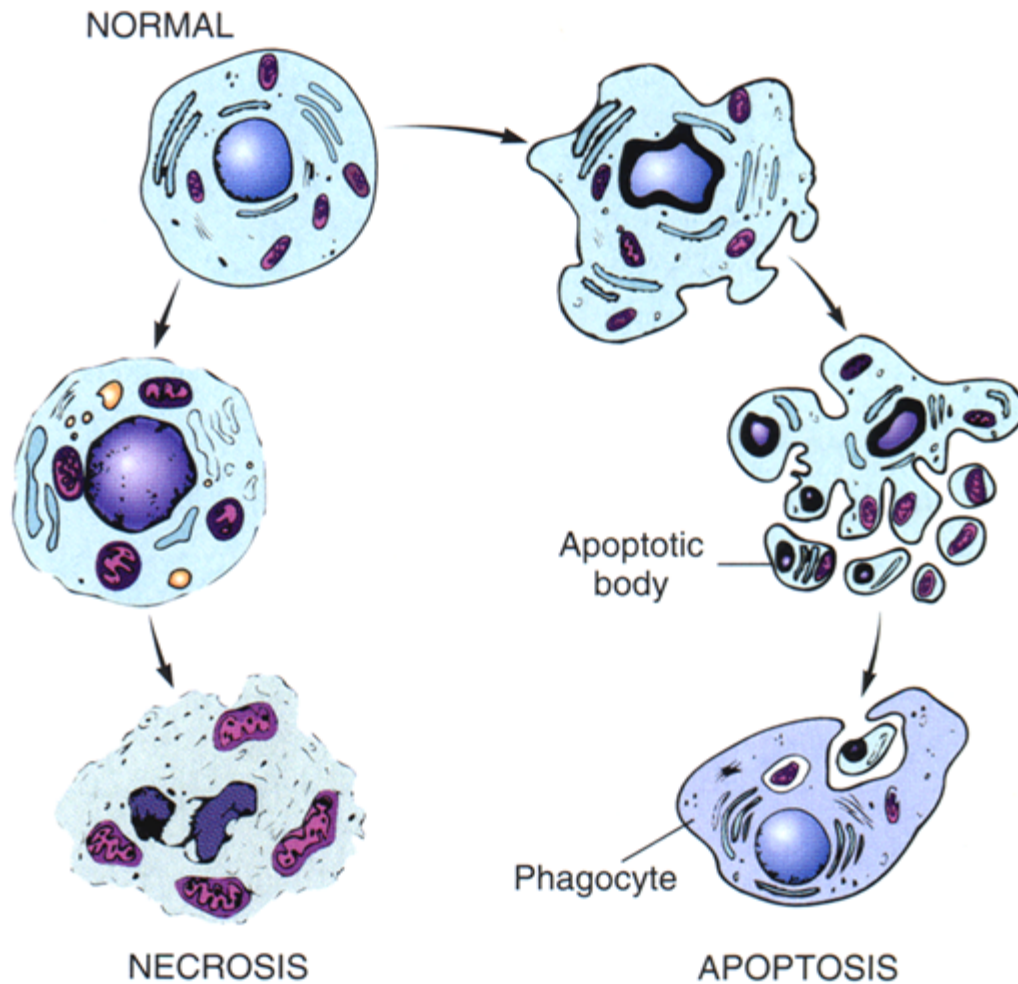


Figure 1-16

The sequential ultrastructural changes seen in coagulation necrosis (*left*) and apoptosis (*right*). In apoptosis, the initial changes consist of nuclear chromatin condensation and fragmentation, followed by cytoplasmic budding and phagocytosis of the extruded apoptotic bodies. Signs of *coagulation necrosis* include chromatin clumping, organellar swelling, and eventual membrane damage. (Adapted from Walker NI, et al: Patterns of cell death. *Methods Archiv Exp Pathol* 13:18-32, 1988. Reproduced with permission of S. Karger AG, Basel.)

Základní strukturální změny buňky při apoptóze: prstenčitá kondensace chromatinu na periferii jádra, cytoplasmatické výběžky, segmentace jádra a plasmu, rozpad buňky s tvorbou tělísek z těchto segmentů, molekuly z vnitřní strany buněčné membrány se dostanou na povrch (SIGNÁL pro okolí), fagocytosa tělísek a zbytků buňky okolními b2 a histiocyty.

Molekulární procesy při apoptóze:

Štěpení proteinů hydrolýzou cystinovými proteázami (kaspázy) Ty narušují jaderné lešení, cytoskeletální proteiny, příčně svazují polypeptidy, a to vše vede k popsaným strukturálním změnám buňky. Aktivuje i endonukleázy.

Rozpad DNA: zpočátku na 50-300 kb, vzniklé fragmenty endonukleázami na oligo-nukleotidy 180-200 bp. Tyto fragmenty lze znázornit elektroforeticky jako “žebříky”.

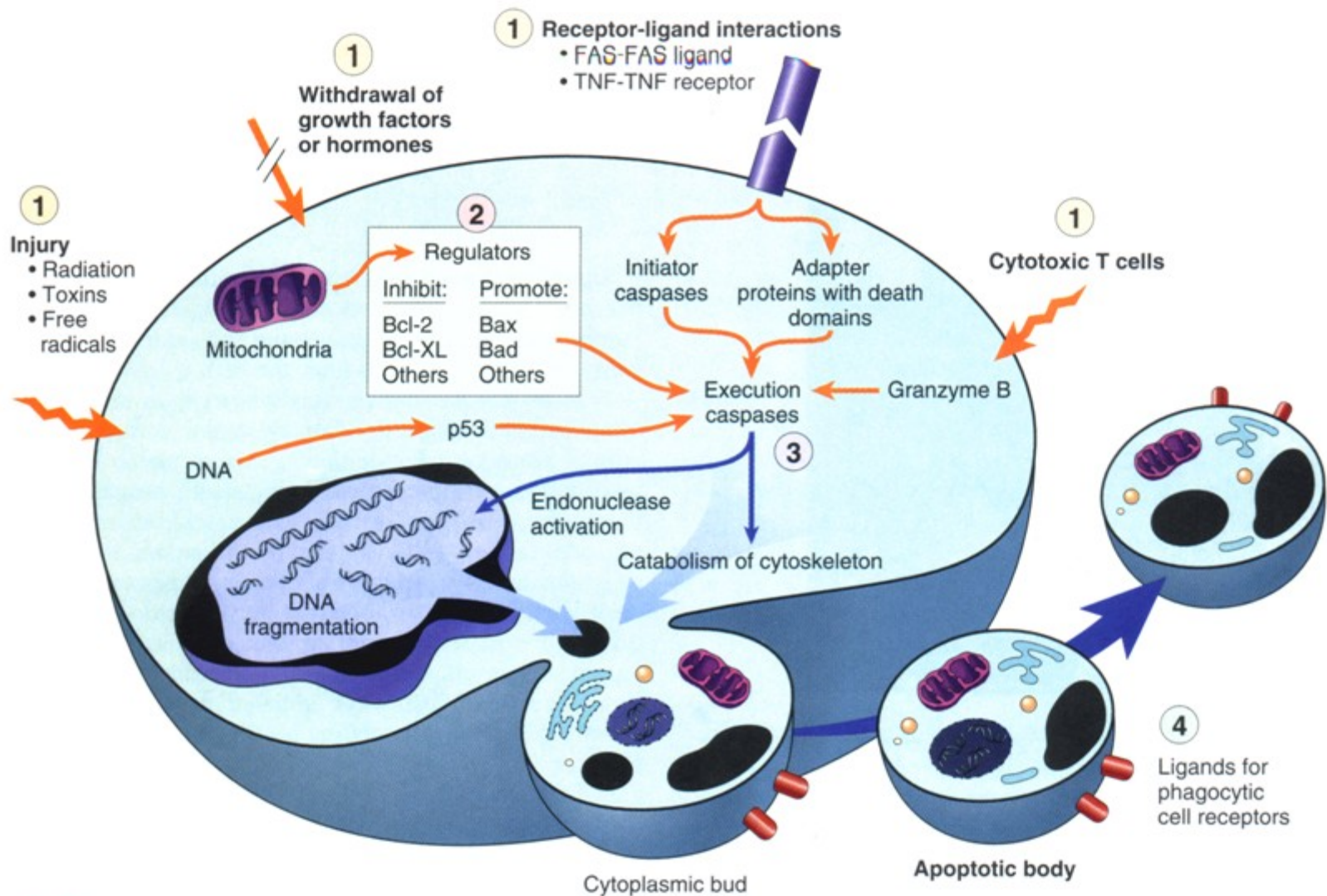


Figure 1-20

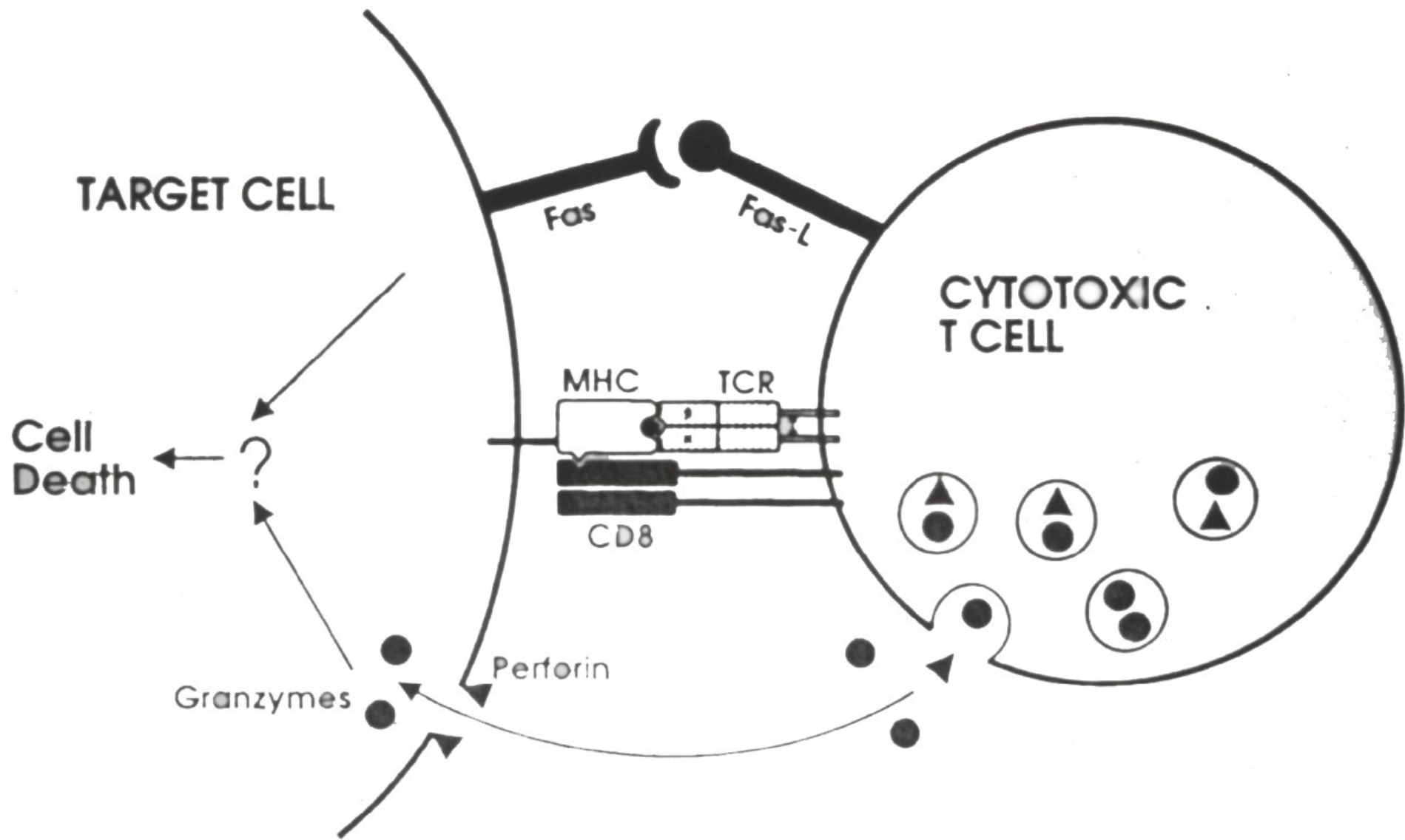
Schematic representation of apoptotic events. Labeled (1) are multiple stimuli of apoptosis. These include specific death ligands (tumor necrosis factor [TNF] and Fas ligand), withdrawal of growth factors or hormones, or injurious agents (e.g., radiation). Some stimuli (such as cytotoxic cells) directly activate execution caspases (*right*). Others act by way of adapter proteins and initiator caspases (see Fig. 1-22), or by mitochondrial events involving cytochrome *c*. (2) Control and regulation are influenced by members of the Bcl-2 family of proteins, which can either inhibit or promote the cell's death. (3) Execution caspases activate latent cytoplasmic endonuclease, and proteases that degrade cytoskeletal and nuclear proteins. This results in a cascade of intracellular degradation, including fragmentation of nuclear chromatin and breakdown of the cytoskeleton. Not shown is transglutaminase-induced cross-linking of proteins. (4) The end result is formation of apoptotic bodies containing various intracellular organelles and other cytosolic components; these bodies also express new ligands for binding and uptake by phagocytic cells.

Signalizační dráhy

Transmembránové signály : Úsek povrchové buněčné membrány (death domain) obsahuje receptory pro apoptotické signály (TNF, FAS-FASL, perforin)

Cytotoxický a genotoxický stress: vazba glukokortikoidů na jaderné receptory, hypoxie, záření, chemoterapie, radikály, toxiny → genotoxický stress → akumulace p53 → zástava buněčného cyklu k reparaci poškození. Pokud k reparaci nedojde, p53 vyvolá apoptózu

Mitochondriální signály mění (zvyšují) permeabilitu mitochondriální membrány. Růstové faktory a další signály stimulují produkci Bcl 2 proteinů. Při nedostatku RF → změna permeability m.m. → cytochrom C uniká póry do cytosolu → APO. Př.: lymfocyty (nestimulované antigeny či cytokiny) , neurony (zbavené nervových růstových faktorů)



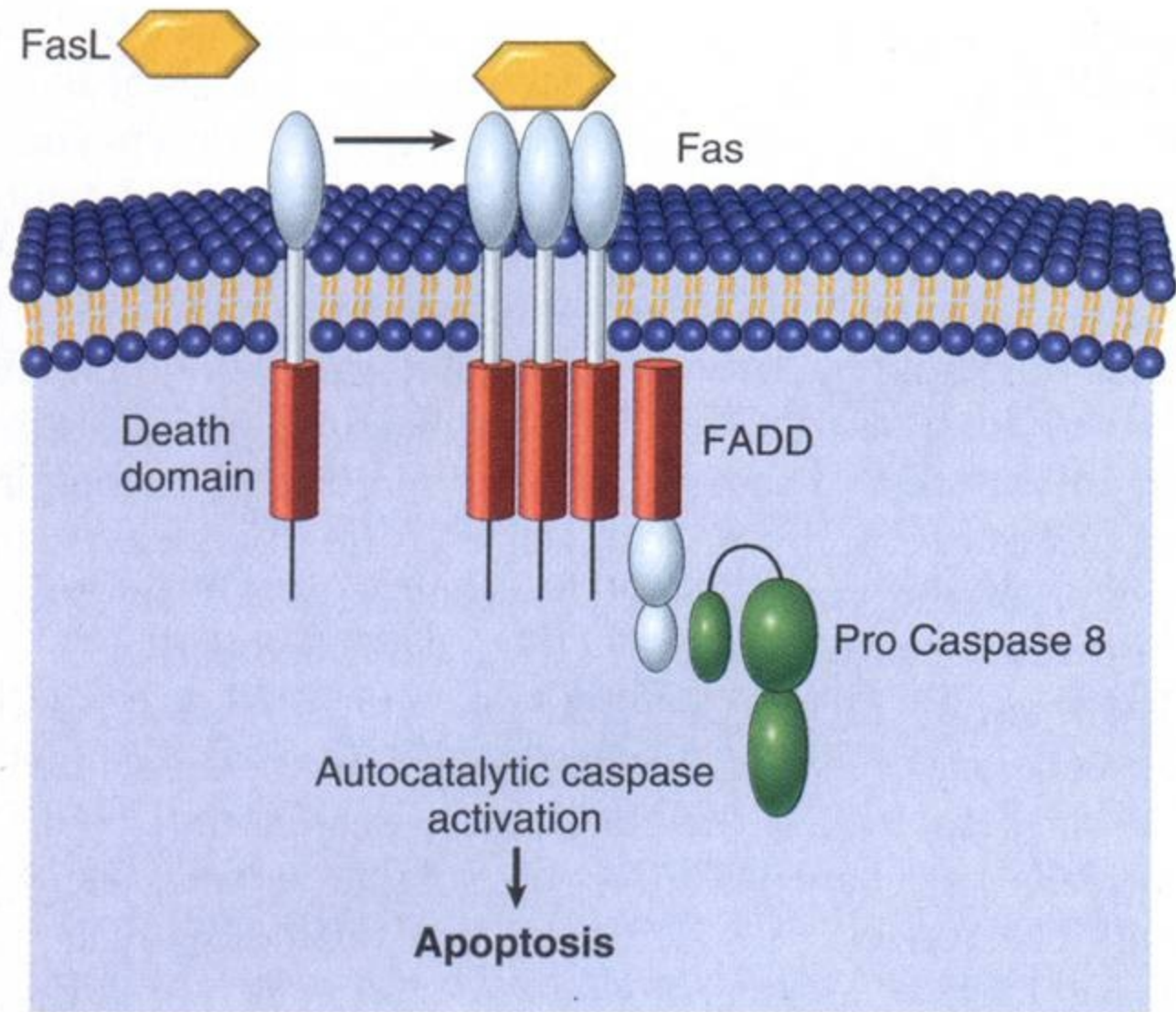


Figure 1-22

A model of Fas-mediated signaling, caspase activation, and the induction of a death signal (see text). FADD, Fas-associating protein with a death domain.

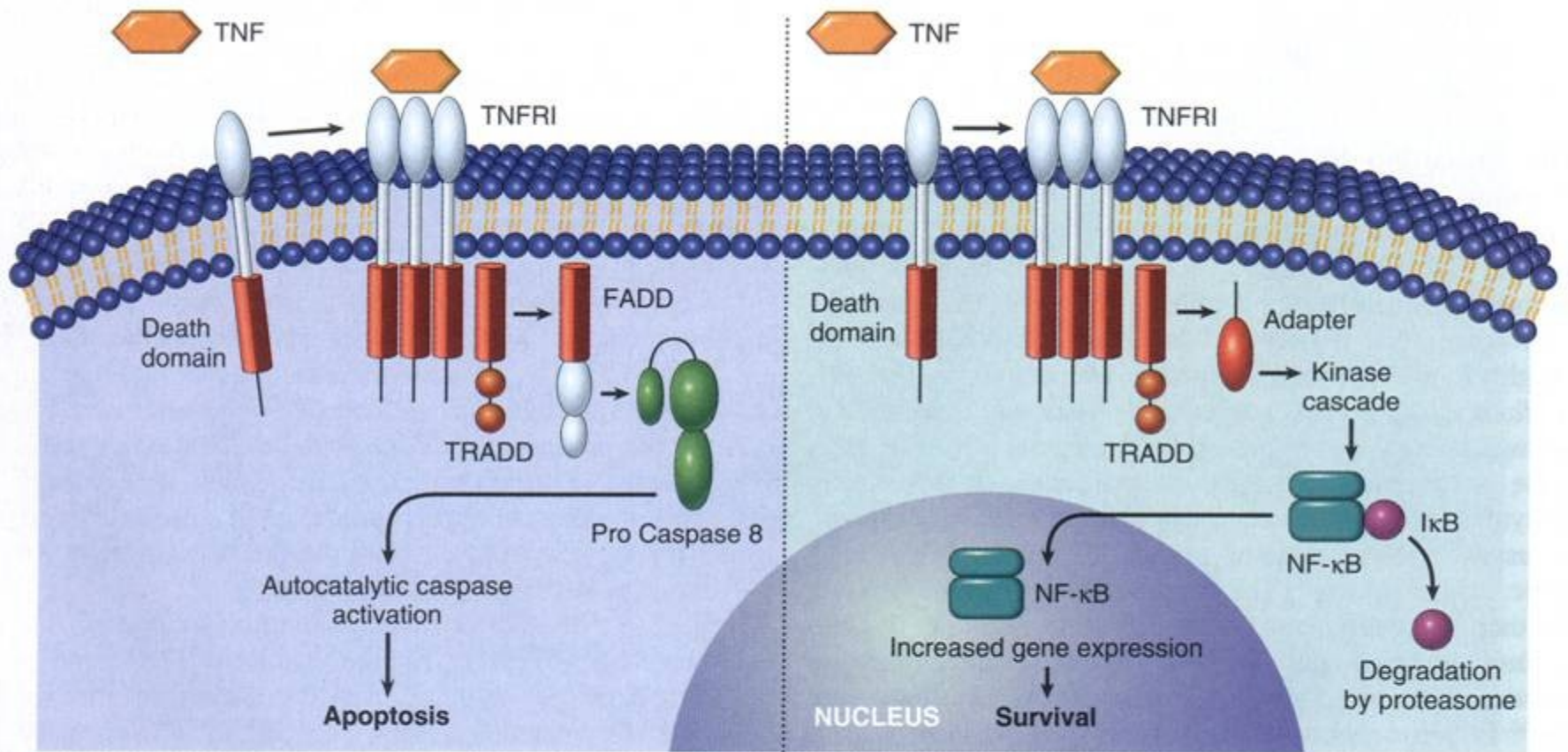


Figure 1-23

Apoptosis vs. survival induced by TNF. A model of TNF-receptor-mediated signaling and the induction of *apoptosis* (left), or NF-κB activation and cell survival signals (right).

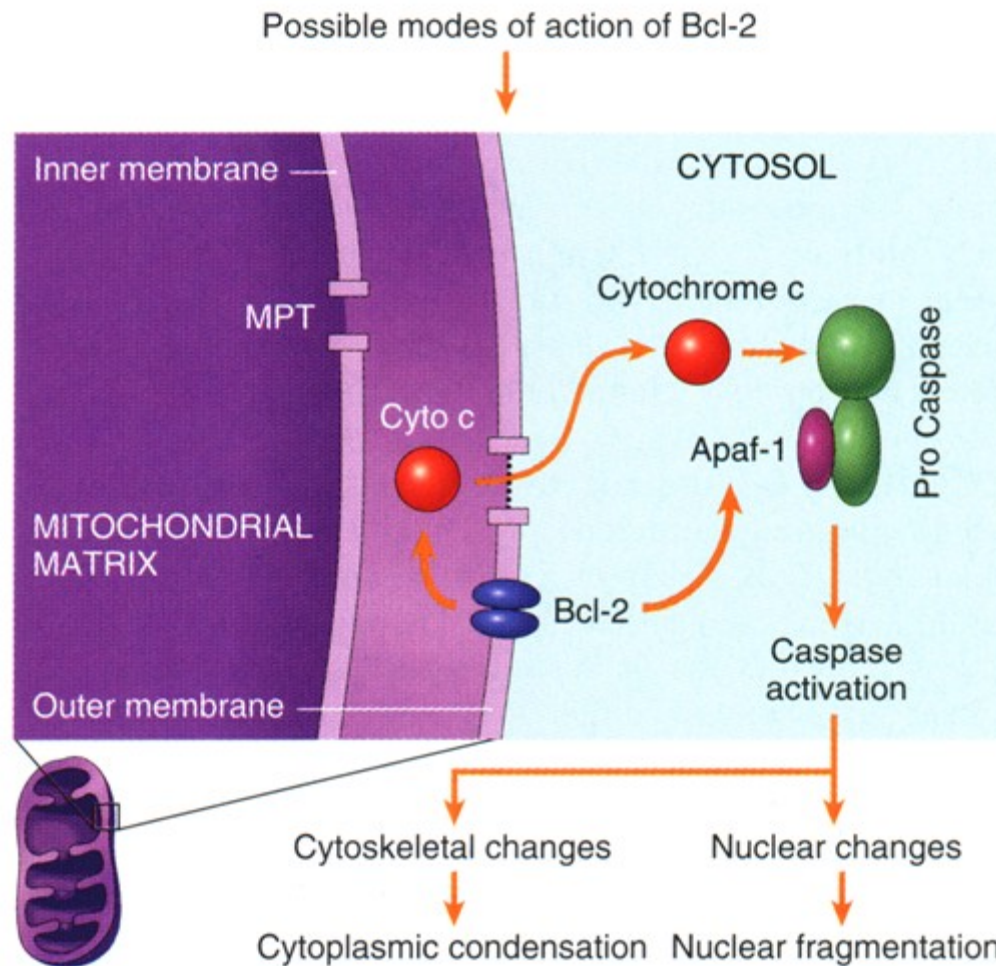


Figure 1-21

Mitochondrial events and the effects of Bcl-2 in apoptosis. Death agonists cause changes in the inner mitochondrial membrane, resulting in the mitochondrial permeability transition (MPT) and release of cytochrome *c* into the cytosol by currently unclear mechanisms. Released cytochrome *c* disrupts the binding between Bcl-2 and pro-apoptotic protease activating factor (Apaf). The latter activates an initiator caspase, which initiates the proteolytic events that eventually kill the cell. Bcl-2 thus suppresses apoptosis by inhibition of cytochrome *c* release and by binding and thus inactivating Apaf-1.

Exekuční fáze: kaskádovitá reakce prováděná proteolytickými enzymy – kaspázami (cysteinové proteázy)

Rozeznání apoptózy v okolní tkáni:

fosfatidyl-serin se dostane na povrch buněčné membrány, někdy je na povrchu apoptotických tělísek exprimována adhezní molekula thrombospondin. To je impulzem k ---

Odstranění produktů apoptózy: fagocytóza histiocyty i dalšími okolními buňkami

ADAPTACE

ODPOVĚĎ NA POŠKOZENÍ BUŇKY

V ŠIRŠÍM SLOVA SMYSLU JSOU TO ZMĚNY HOMEOSTÁZY VEDOUcí KE ZMĚNÁM BUNĚČNÉHO METABLISMU. KROMĚ **OBEČNÝCH ADAPTAČNÍ REAKCÍ** EXISTUJÍ I **SYSTÉMOVÉ ADAPTACE** VEDOUcí K VELIKOSTNÍM A STRUKTURÁLNÍM ZMĚNÁM TKÁNÍ, BUNĚK A JEJICH ZÁKLADNÍCH SOUČÁSTÍ (ORGANEL, CYTOSKELETU--), KE ZMĚNÁM BUNĚČNÉ PROLIFERACE A DIFERENCIACE A **PORUCHY METABOLISMU** ŽIVIN, VODY, MINERÁLŮ A DALŠÍCH LÁTEK.