Buněčná smrt
- seminář

Kateřina Straková

k.strakova@med.muni.cz

Identifikujte typy buněčné smrti:

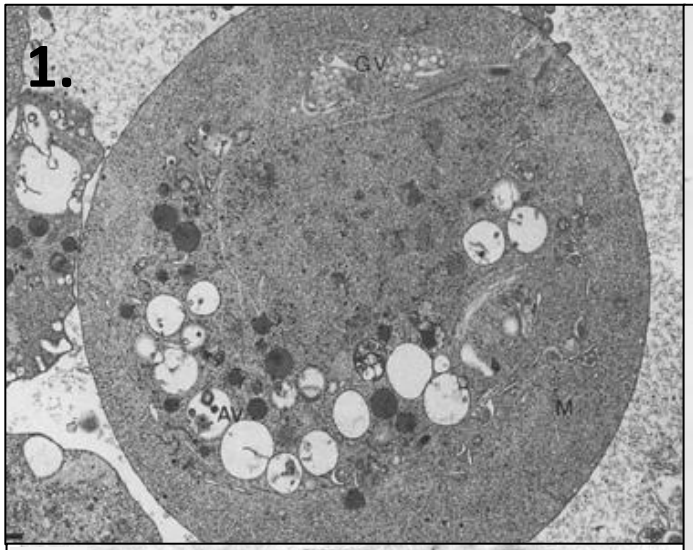
A. 1. Apoptóza
   2. Autofagie
   3. Nekróza

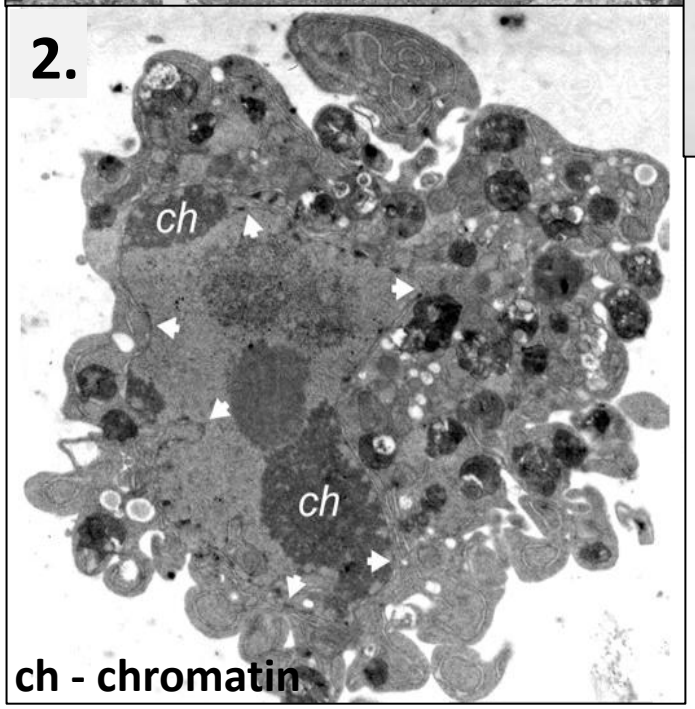
B. 1. Nekróza
   2. Autofagie
   3. Apoptóza

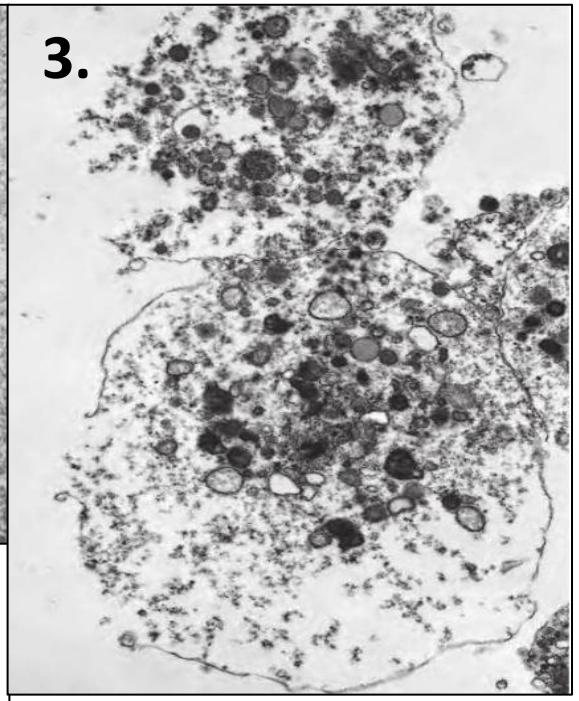
C. 1. Autofagie
   2. Nekróza
   3. Apoptóza

D. 1. Autofagie
   2. Apoptóza
   3. Nekróza

E. 1. Apoptóza
   2. Nekróza
   3. Autofagie







Identifikujte typy buněčné smrti:

01:11

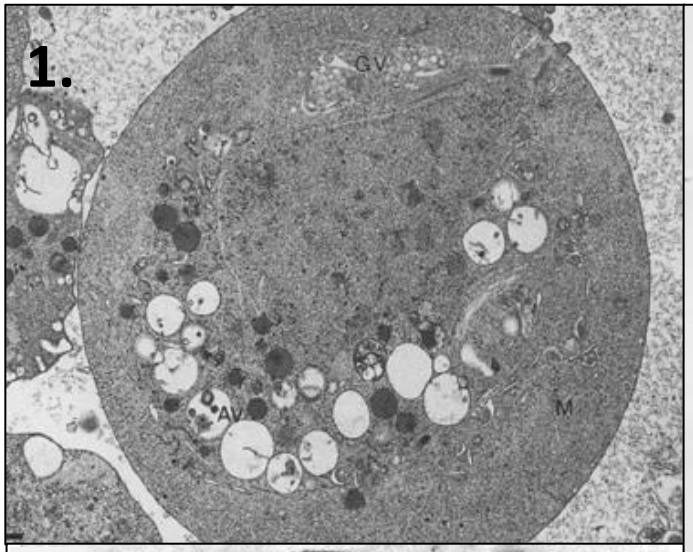
A. 1. Apoptóza
   2. Autofagie
   3. Nekróza

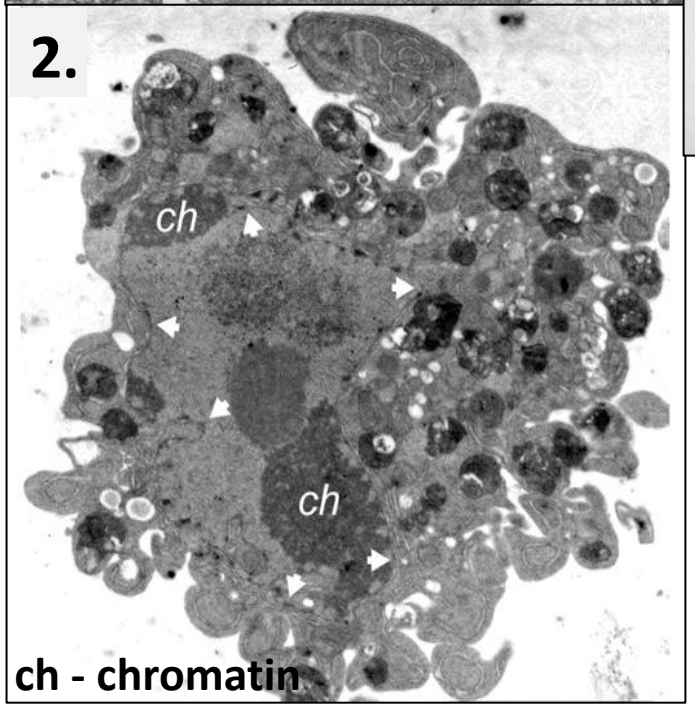
B. 1. Nekróza
   2. Autofagie
   3. Apoptóza

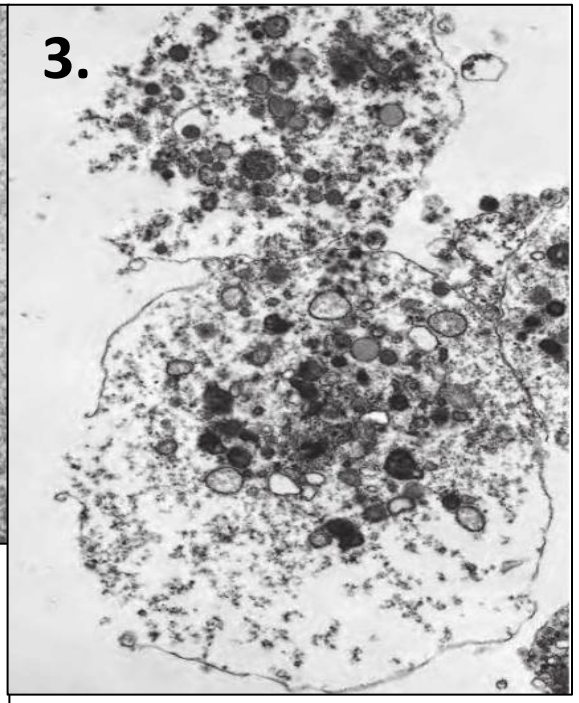
C. 1. Autofagie
   2. Nekróza
   3. Apoptóza

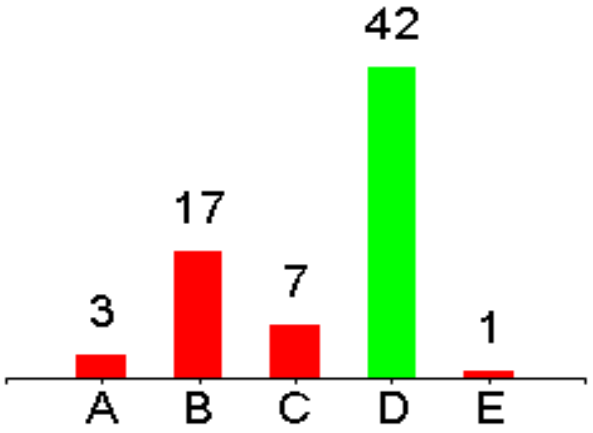
✓ D. 1. Autofagie
   2. Apoptóza
   3. Nekróza

E. 1. Apoptóza
   2. Nekróza
   3. Autofagie



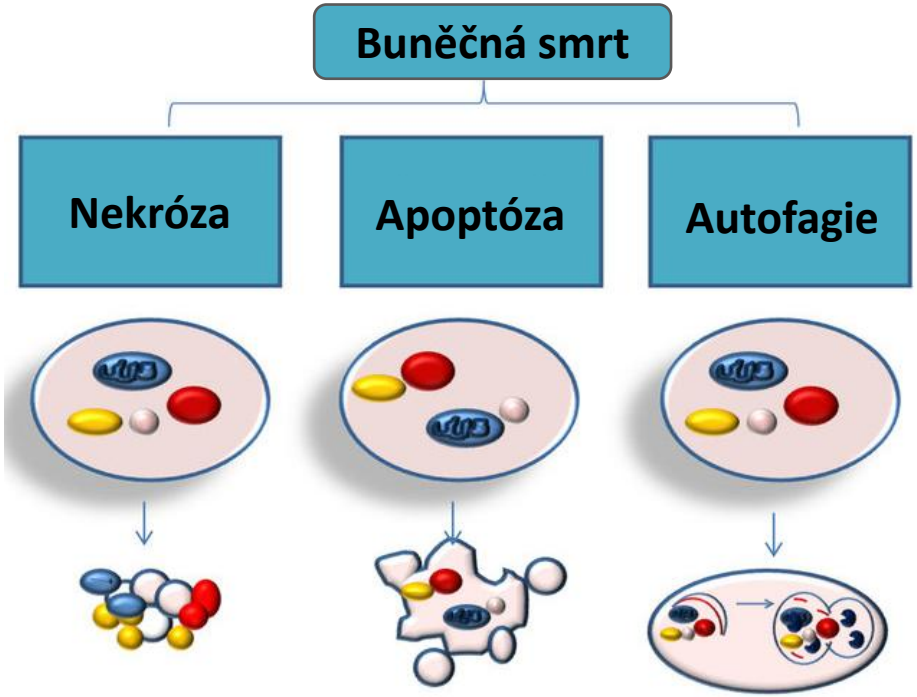






Not Voted:31
(31,0%)

Různé typy buněčné smrti



...a mnoho dalších

Nekróza

- chápána převážně jako nefyziologický proces způsobený patologickými vnějšími vlivy
- bobtnání buňky a následné vylití obsahu do okolí
- ztráta integrity membrány
- vede k zánětu, který poškozuje okolní tkáň

Apoptóza

- řízený proces - zmenšení a zakulacení buňky, fragmentace DNA a organel, tvorba membránových blebů (vychlípenin membrány), disociace na apoptotická tělíska
- integrita membrány zachována
- odstranění fagocytózou
- nevede k zánětu

Autofagie (autofagocytóza)

- často v případě nedostatku energie nebo kyslíku; také recyklace starých organel
- řízený proces - cílové organely se uzavírají do autofagozomů, které následně fúzují s lyzozomy
- může vést k buněčné smrti nebo k přežití, nevede k zánětu

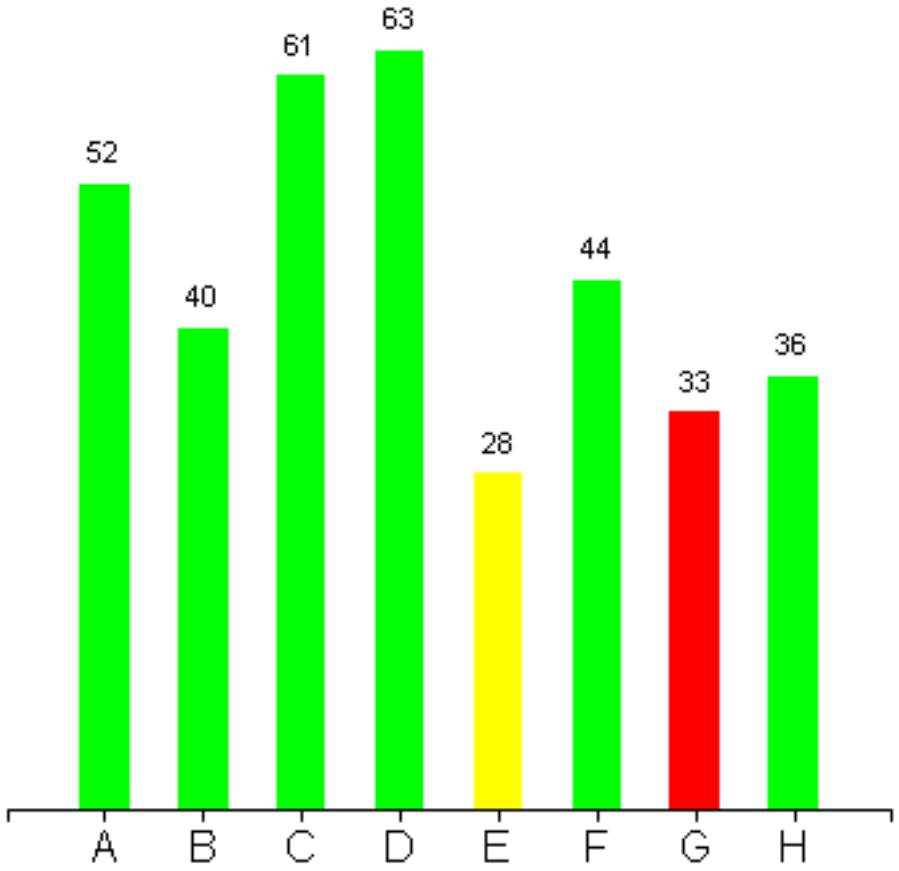
Apoptóza může být spuštěna:

A. Když buňka pevné tkáně ztratí kontakt se svým okolím
B. V buňkách napadených virem
C. Po poškození DNA
D. Při embryonálním vývoji orgánů
E. Při absenci růstových faktorů
F. Když buňka obdrží signál ligandu Fas nebo TNF-α
G. Když je aktivovaný protein Bcl-2
H. Při uvolnění jednoho z proteinů elektronového transportního řetězce z mitochondrií

Apoptóza může být spuštěna:

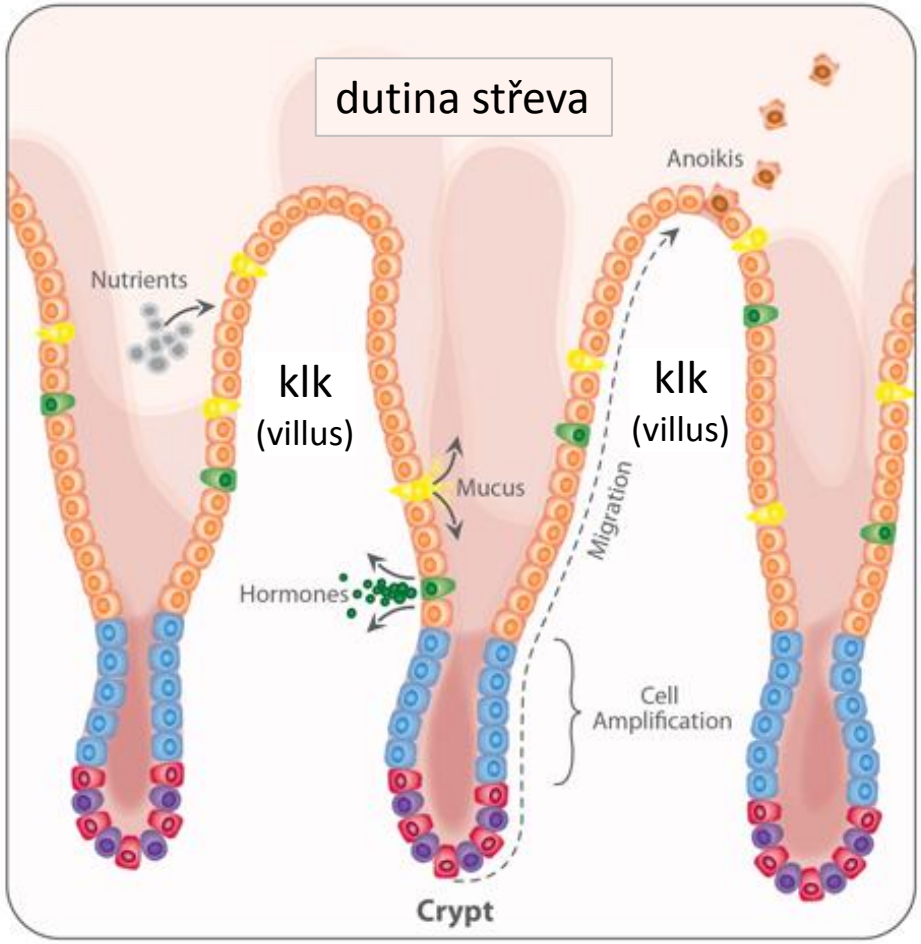
01:34

- A. Když buňka pevné tkáně ztratí kontakt se svým okolím
- B. V buňkách napadených virem
- C. Po poškození DNA
- D. Při embryonálním vývoji orgánů
- E. Při absenci růstových faktorů
- F. Když buňka obdrží signál ligandu Fas nebo TNF-α
- G. Když je aktivovaný protein Bcl-2
- H. Při uvolnění jednoho z proteinů elektronového transportního řetězce z mitochondrií



Not Voted:32 (32,0%)

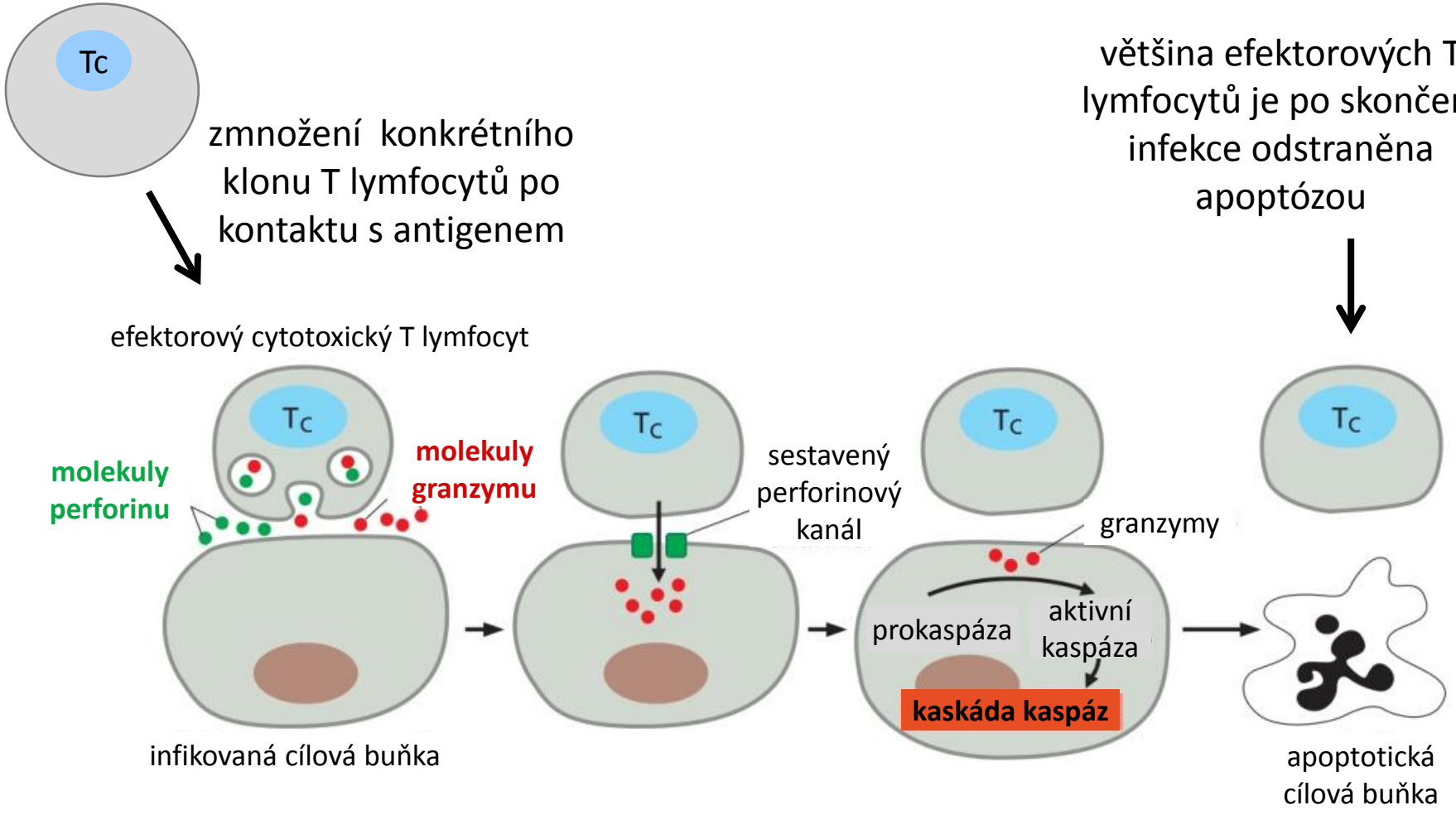
Apoptóza může být spuštěna v opotřebovaných buňkách odloučených z epitelů - anoikis



- střevní kmenové buňky
- panethovy buňky
- progenitory
- pohárkové buňky
- entero-endokrinní buňky
- enterocyty

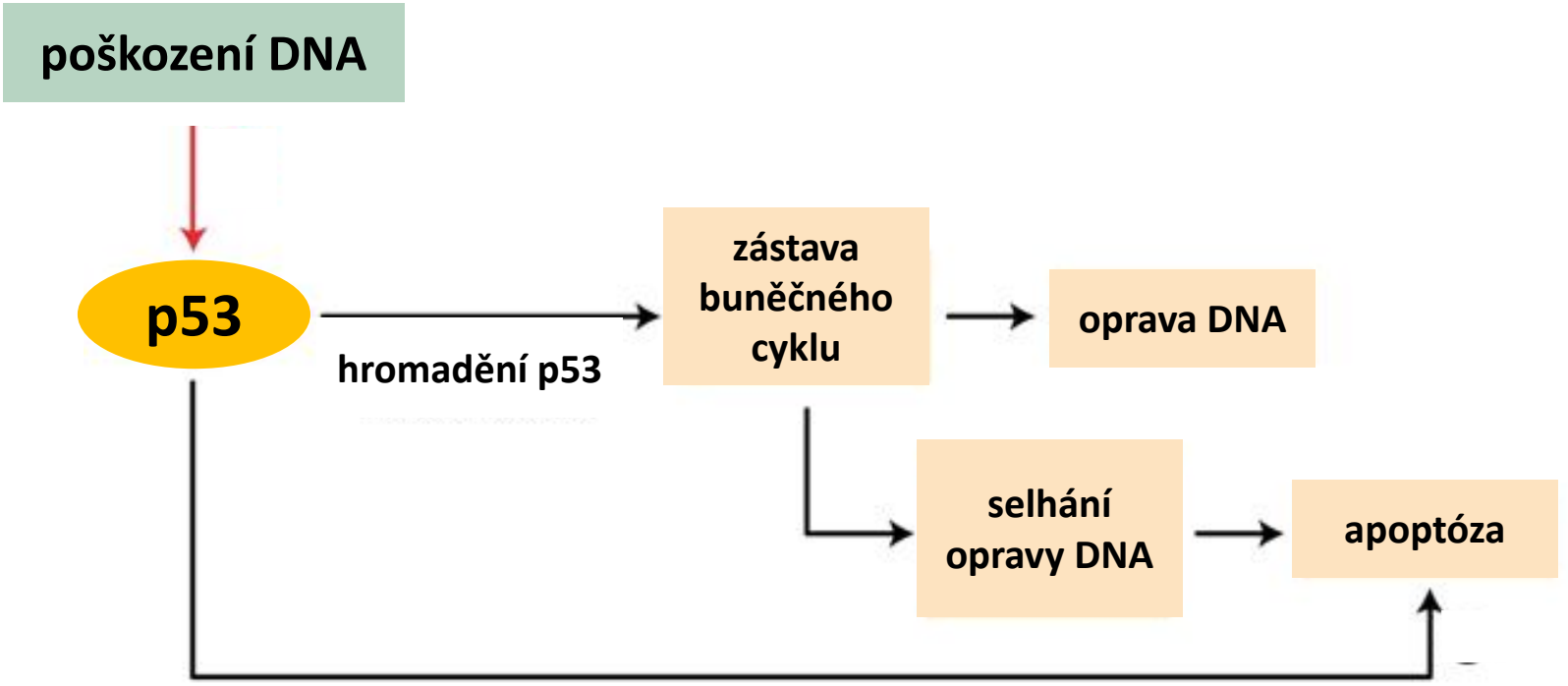
https://www.youtube.com/watch?v=NlT1VYqMzgc

Apoptóza může být spuštěna v buňkách napadených virem (nebo jiným patogenem)

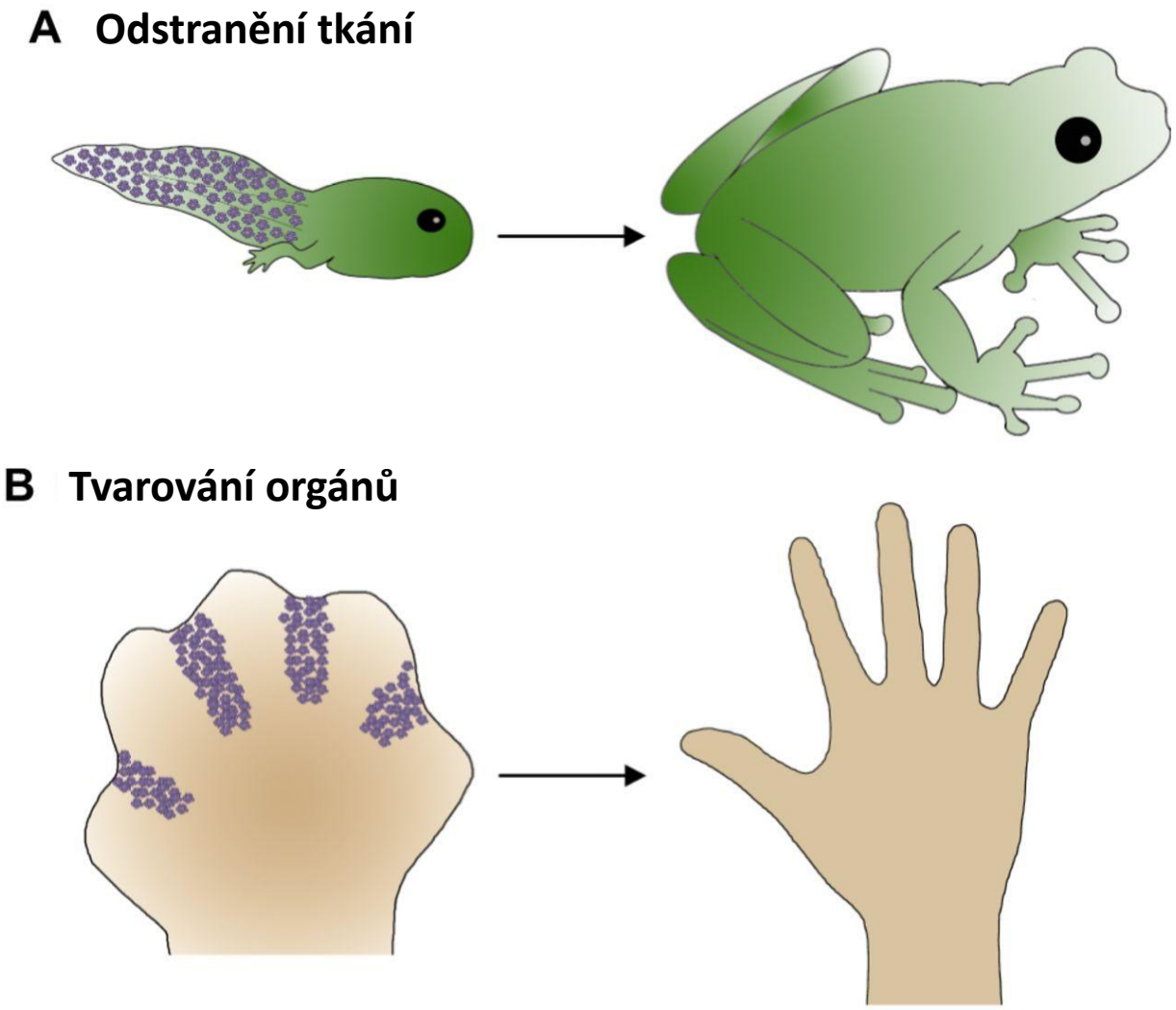


...ale i v buňkách imunitního systému, které už nejsou potřeba

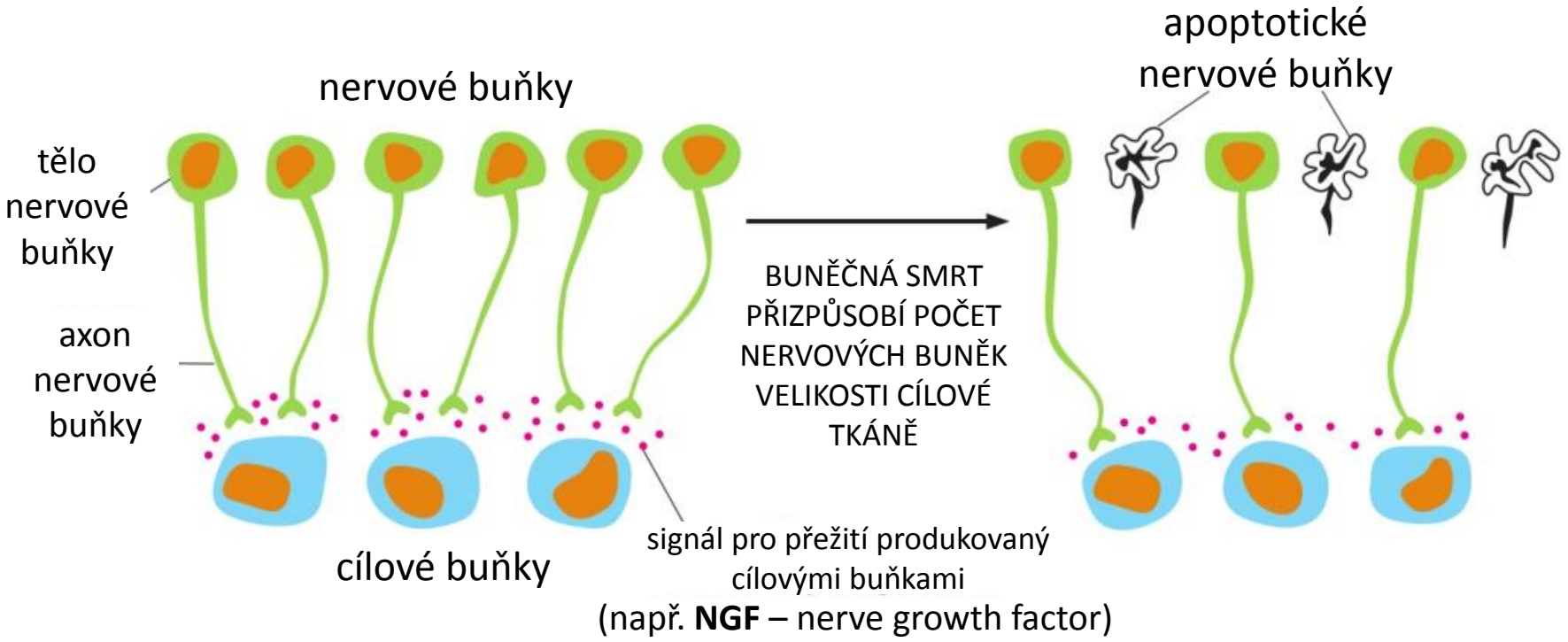
Apoptóza může být spuštěna po poškození DNA



Apoptóza může být spuštěna při embryonálním vývoji orgánů



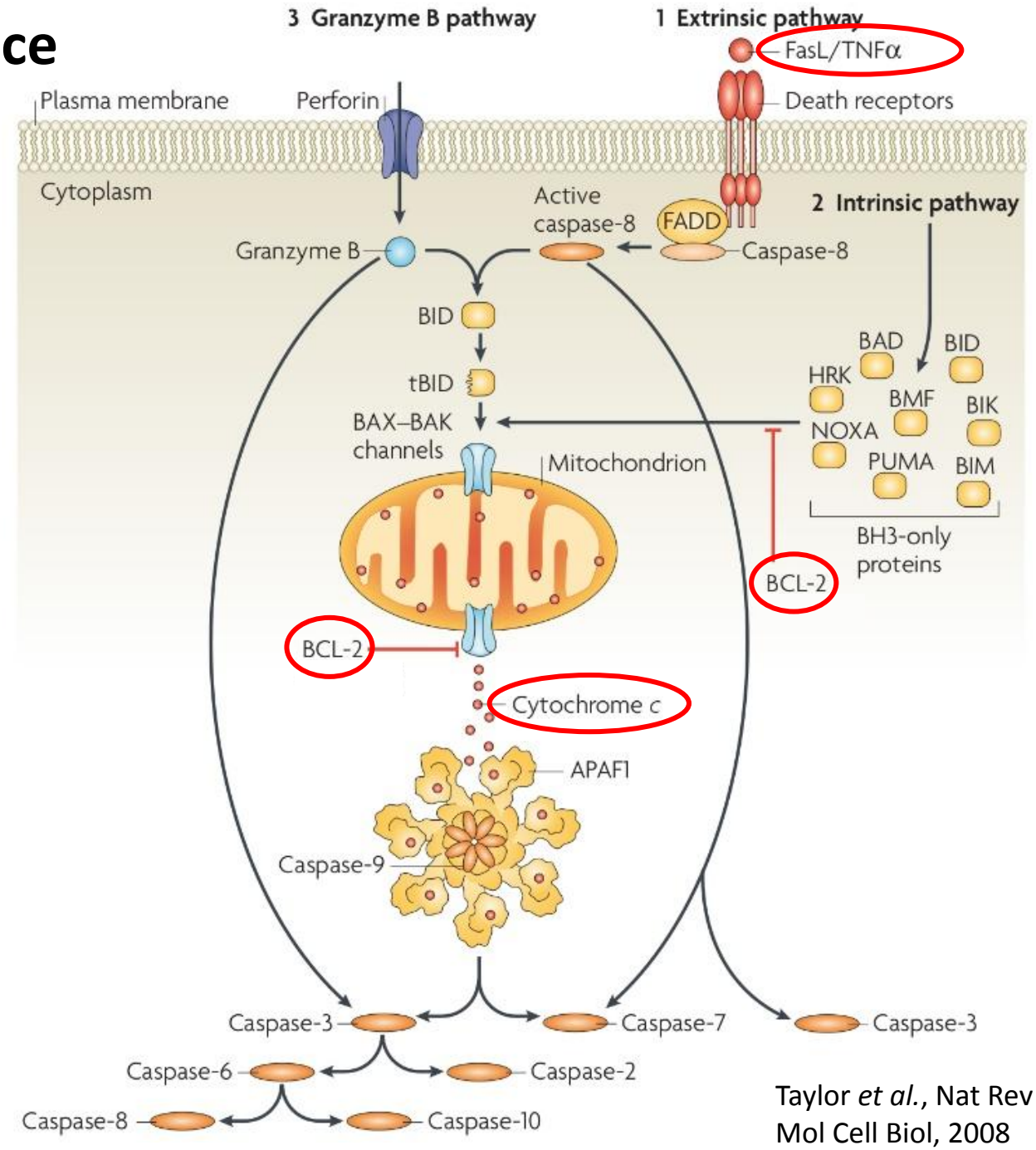
Apoptóza může být spuštěna při embryonálním vývoji orgánů, například díky nedostatku růstových faktorů



Při vývoji mozku dochází k **nadprodukci buněk**, které jsou potom v pozdějších fázích vývoje podrobovány **selekci apoptózou**. Během tzv. *period programované buněčné smrti* mají buňky implicitně nastaveno, že zemřou programovanou buněčnou smrtí. Pouze pokud obdrží dostatek **signálů k přežití**, je programovaná buněčná smrt odvrácena a buňky přežijí.

Růstové faktory → signály pro dělení buněk, pro diferenciaci a pro přežití

Apoptóza – regulace



Taylor *et al.*, Nat Rev Mol Cell Biol, 2008

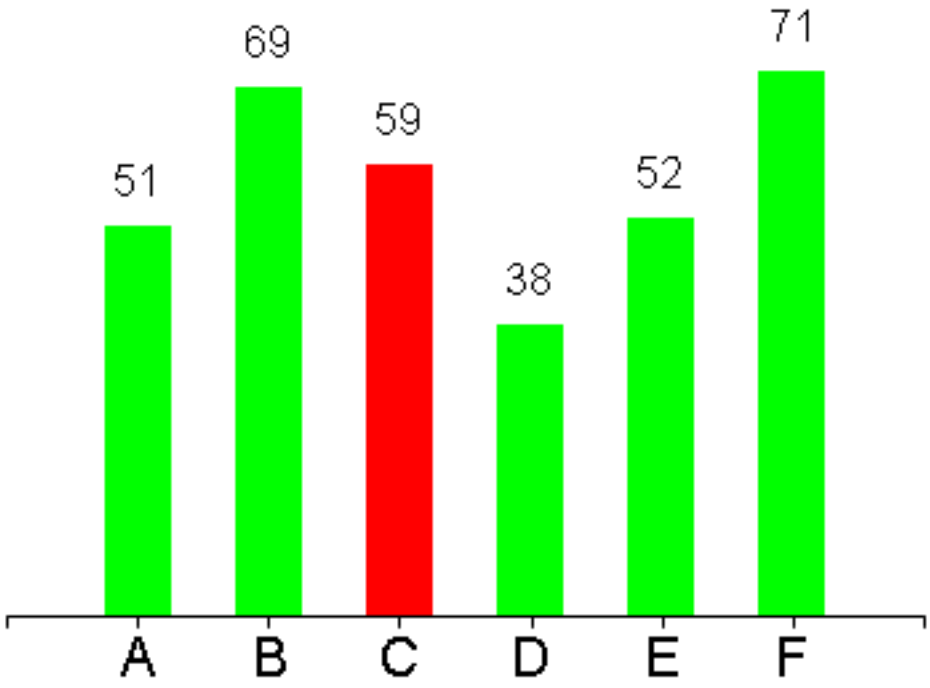
Co se děje během apoptózy:

A. Aktinová, tubulinová a intermediární filamenta jsou štěpena činností kaspáz
B. Jádro, endoplazmatické retikulum a Golgiho aparát fragmentují
C. Jaderná DNA kondenzuje a je štěpena kaspázami
D. Kaspázy štěpí transkripční faktory a ribozomální proteiny
E. Hladina ATP v buňce klesá
F. Buňka vysílá signály, aby byla rozpoznána a pohlcena fagocyty

Co se děje během apoptózy:

01:42

- A. Aktinová, tubulinová a intermediární filamenta jsou štěpena činností kaspáz
- B. Jádro, endoplazmatické retikulum a Golgiho aparát fragmentují
- C. Jaderná DNA kondenzuje a je štěpena kaspázami
- D. Kaspázy štěpí transkripční faktory a ribozomální proteiny
- E. Hladina ATP v buňce klesá
- F. Buňka vysílá signály, aby byla rozpoznána a pohlcena fagocyty



Not Voted:27 (27,0%)

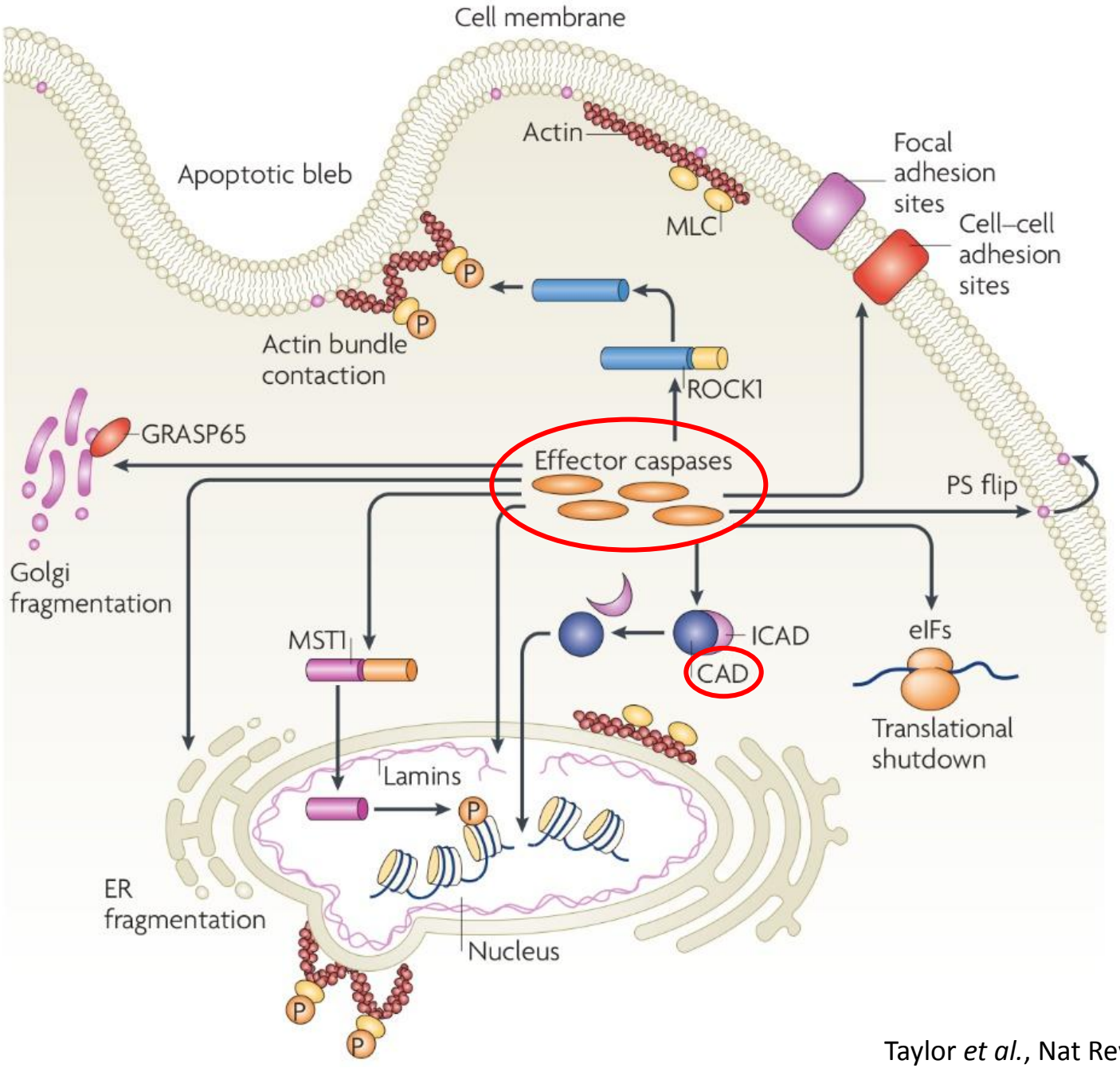
Kaspázy

- štěpí stovky buněčných proteinů a zajišťují tak všeobecný rozpad buněčných struktur

MLC – lehký řetězec myozinu (myosin light chain)
CAD – endonukleáza aktivovaná kaspázou (caspase-activated DNase)
eIFs – translační iniciační faktory

„death by a thousand cuts“

凌遲



Taylor *et al.*, Nat Rev Mol Cell Biol, 2008

Kaspázy

- proteázy, které po aktivaci specificky **štěpí** své **proteinové substráty:**

  - komponenty cytoskeletu a jaderného skeletu (např. aktin, myozin, tubulin, spektrin, jaderné laminy, ROCK – aktivace kinázy štěpením způsobí fosforylaci MLC a kontrakci aktinu/myozinu – aktivní tvorba blebů, fragmentace jádra)
  - komponenty mezibuněčných spojů a spojů s extracelulární matrix (např. kadheriny)
  - transkripční faktory, translační iniciační faktory, ribozomální proteiny
  - endonukleázu CAD (odštěpením části proteinu se tato nukleáza vymaní z vazby s inhibičním proteinem ICAD a může zahájit štěpení DNA)
  - kinázu MST1 (odštěpením části proteinu se tato kináza aktivuje, translokuje do jádra, kde fosforyluje histony a tím zajišťuje kondenzaci DNA)
  - proteiny organizující endoplazmatické retikulum a Golgiho aparát
  - proteiny, které po štěpení zajistí signalizaci fagocytujícím buňkám
  - metabolické enzymy
  - proteazom

Apoptóza – mechanismus

Oslabení klíčových buněčných struktur

- rozpad buněčných adhezí
- rozpad jádra a cytoskeletu

Zastavení základních životních funkcí

- kondenzace a degradace DNA
- zástava syntézy proteinů a dalšího metabolismu
- zástava výroby energie

PROČ?

Odstranění buňky a recyklace materiálu

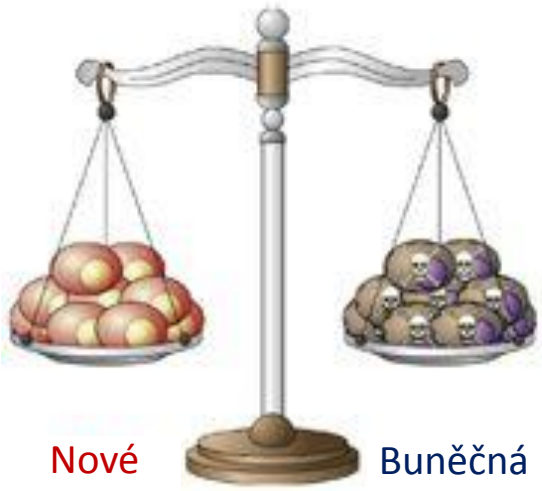
- signalizace k upoutání pozornosti fagocytujících buněk

Apoptóza – shrnutí

- apoptóza je **fyziologická programovaná buněčná smrt** – slouží k **eliminaci** nadbytečných, starých, poškozených, infikovaných nebo jinak „nebezpečných“ **buněk mnohobuněčného organismu**
- může být **spuštěna zvnějšku** nebo **zevnitř** buňky
- je **přísně regulovaná** na mnoha úrovních, aby v organismu probíhala pouze v buňkách, ve kterých má probíhat a se správným načasováním
- zahrnuje mnoho procesů, které mají za úkol zajistit, že:
  - **se „nebezpečné“ buňky nebudou dále dělit** (a to i v tom případě, kdyby se jim ještě po zahájení apoptózy nakonec podařilo buněčné smrti vyhnout)
    - např. u buněk infikovaných virem může degradace jaderné DNA a zastavení genové exprese sloužit jako obrana proti šíření infekce
  - budou **velké buňky fragmentovány**, a tím pádem **snadněji odstraněny** po malých kouskách (apoptotická tělíska)
  - buněčná smrt **nevyvolá zánětlivou odpověď**

Apoptóza a souvislost s některými onemocněními

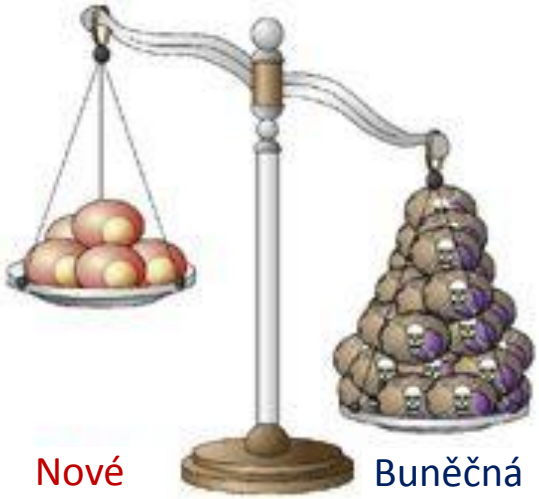
NORMÁLNÍ TKÁŇ



Nové buňky

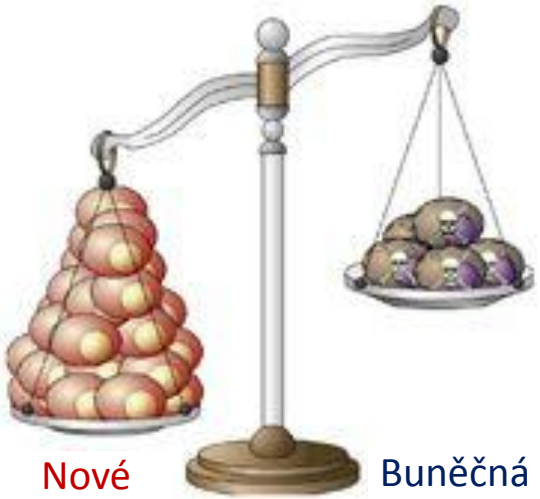
Buněčná smrt

CHOROBY S PORUCHAMI BUNĚČNÉ SMRTI



Nové buňky

Buněčná smrt



Nové buňky

Buněčná smrt

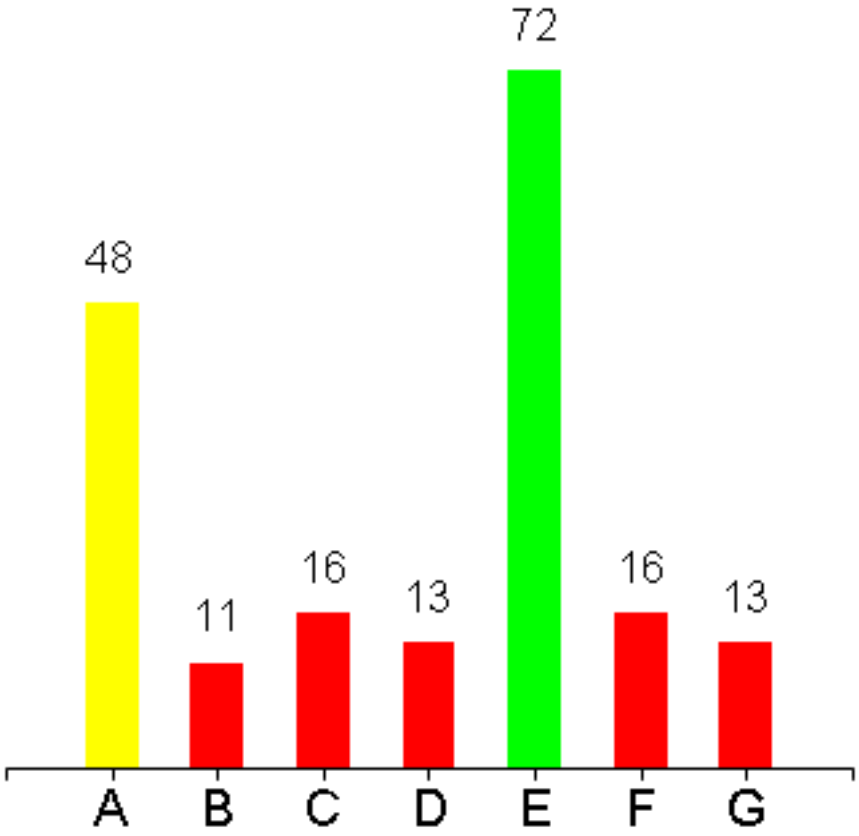
Která onemocnění souvisí s nedostatečnou apoptózou buněk?

A. Autoimunitní choroby
B. Amyotrofická laterální skleróza
C. Cévní mozková příhoda
D. Parkinsonova nemoc
E. Rakovina
F. Alzheimerova nemoc
G. Huntingtonova choroba

Která onemocnění souvisí s nedostatečnou apoptózou buněk?

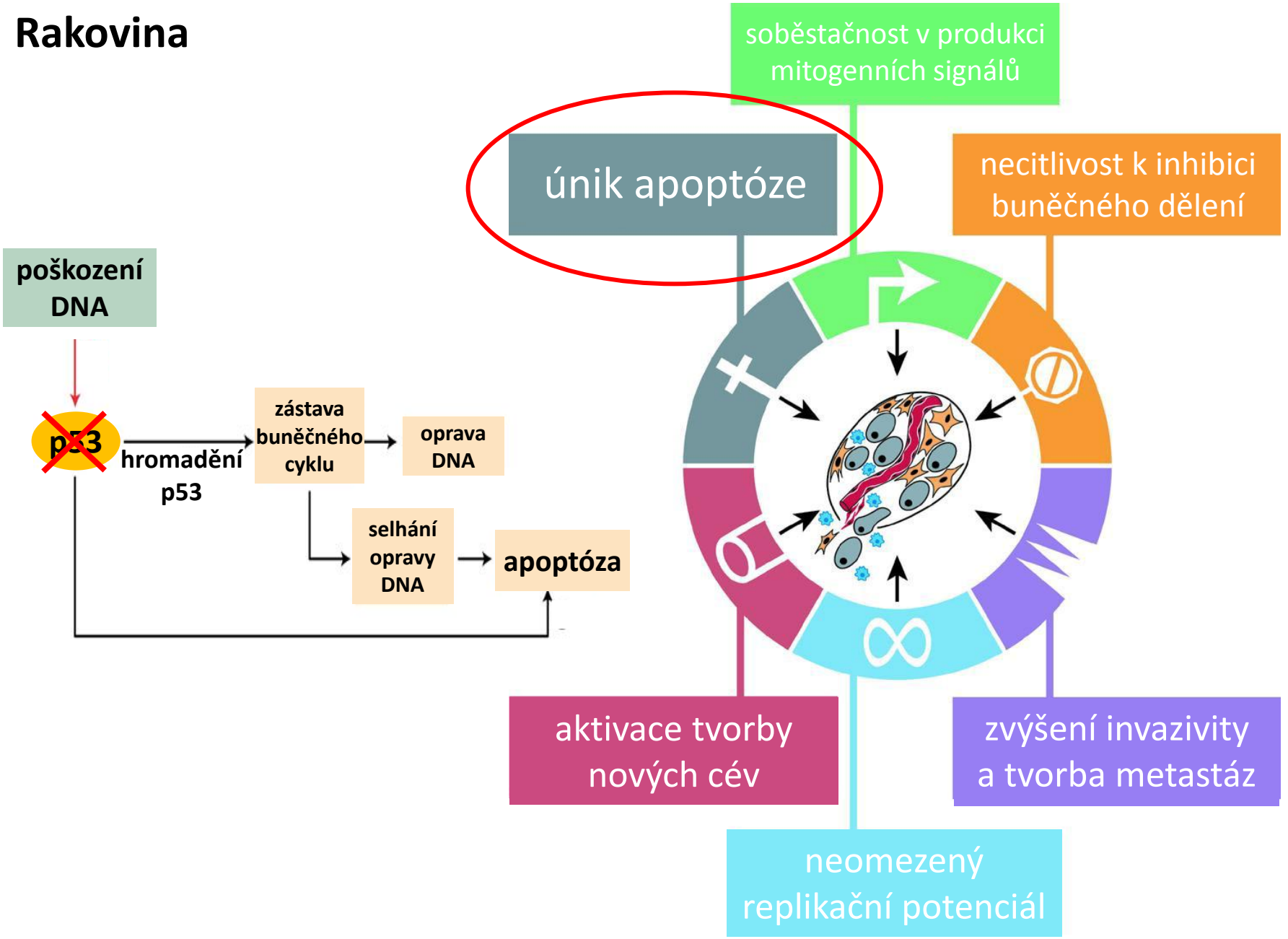
00:11

- ✓ A. Autoimunitní choroby
- B. Amyotrofická laterální skleróza
- C. Cévní mozková příhoda
- D. Parkinsonova nemoc
- ✓ E. Rakovina
- F. Alzheimerova nemoc
- G. Huntingtonova choroba



Not Voted:26
(26,0%)

Rakovina

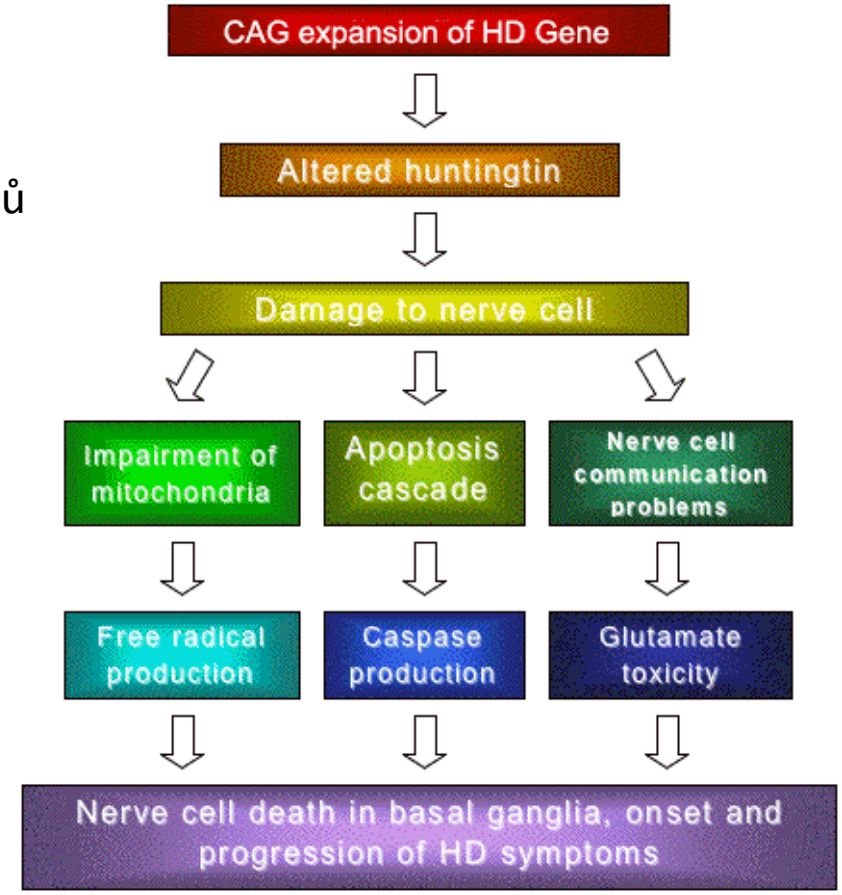


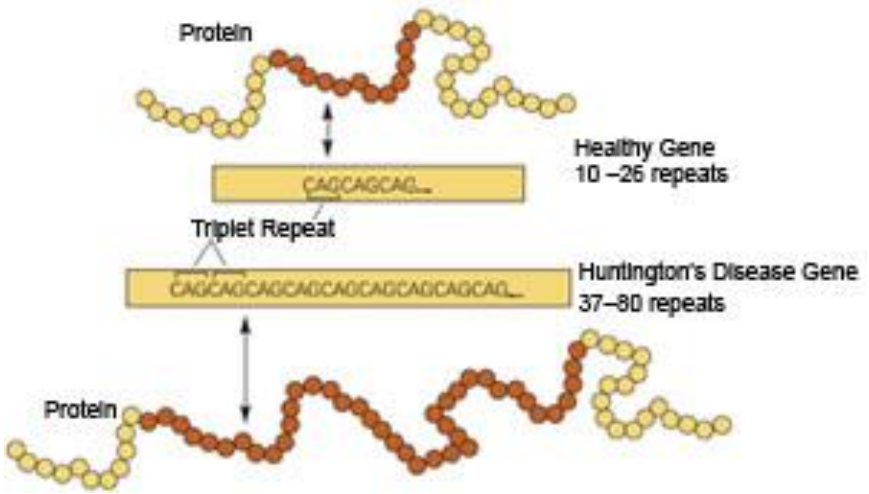
Více v přednáškách o nádorové transformaci

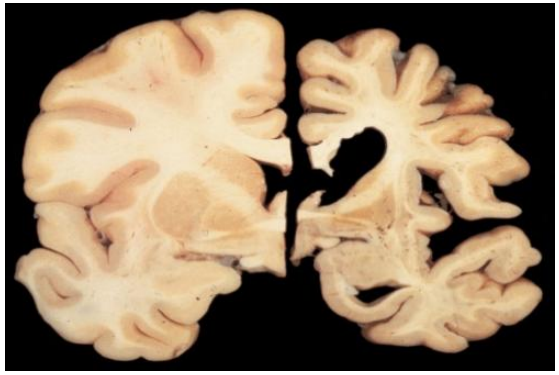
D. Hanahan, & Weinberg, R.A. (2000) The Hallmarks of Cancer, Cell, Vol. 100, pp. 57-70.

Huntingtonova choroba

- mutace v genu kódujícím protein **huntingtin** (exprese v neuronech) – expanze trinukleotidů – obrovský protein, který buňka (neuron) neumí degradovat a odumírá apoptózou
- projevuje se nekoordinovanými pohyby těla (“tanec sv. Víta“), mentální schopnosti se progresivně zhoršují až do stadia demence
- většinou se začíná projevovat po 30.-50. roku věku (záleží na počtu tripletů)
- Současná léčba je čistě symptomatická

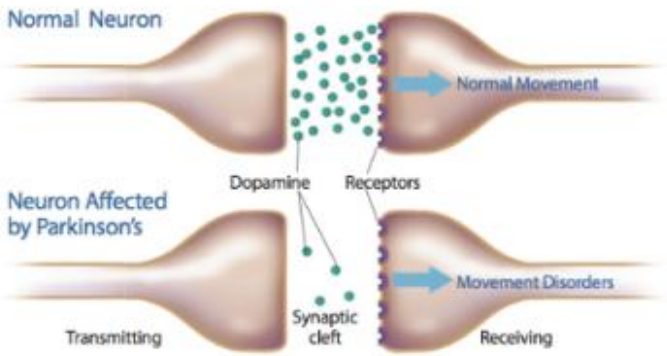


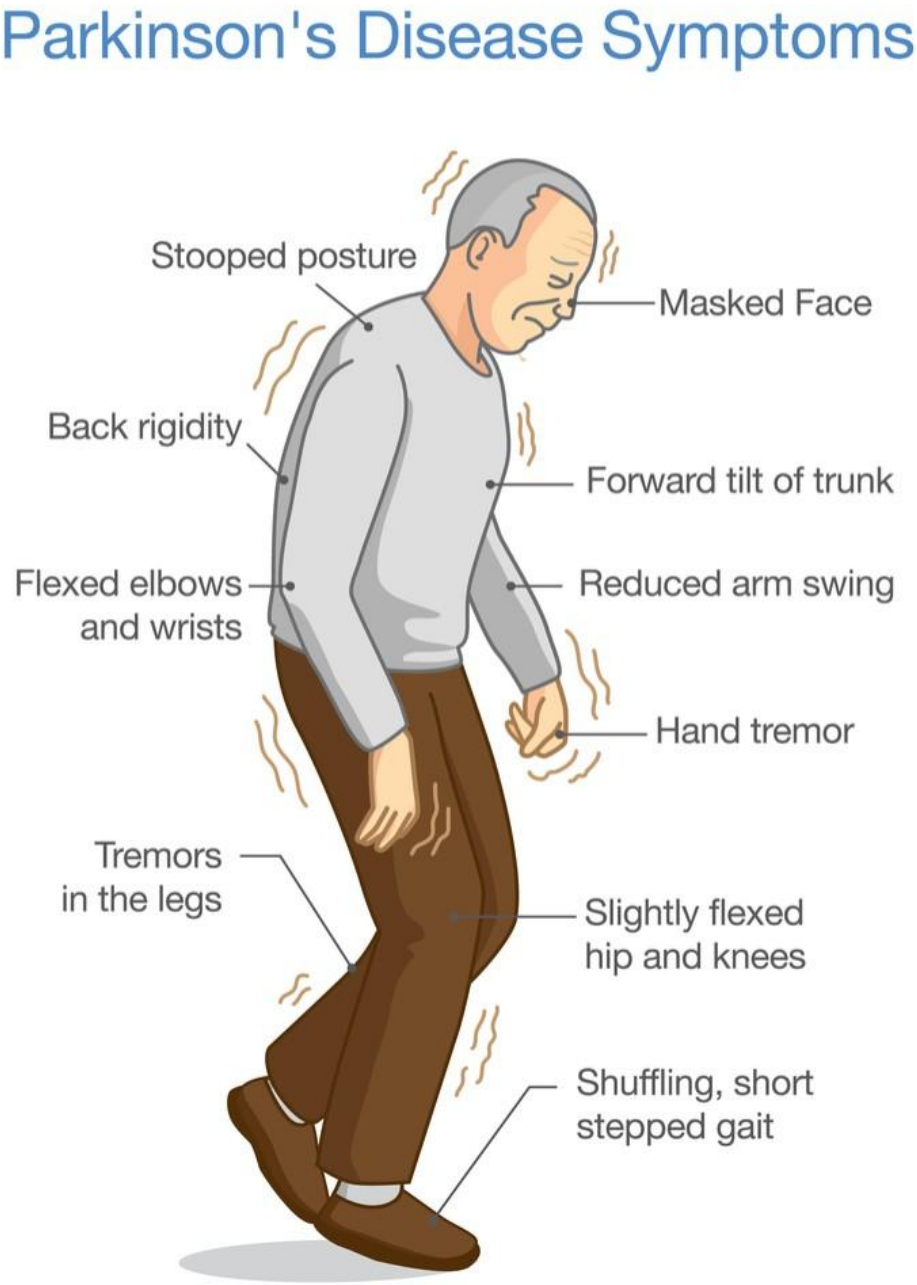




Parkinsonova choroba

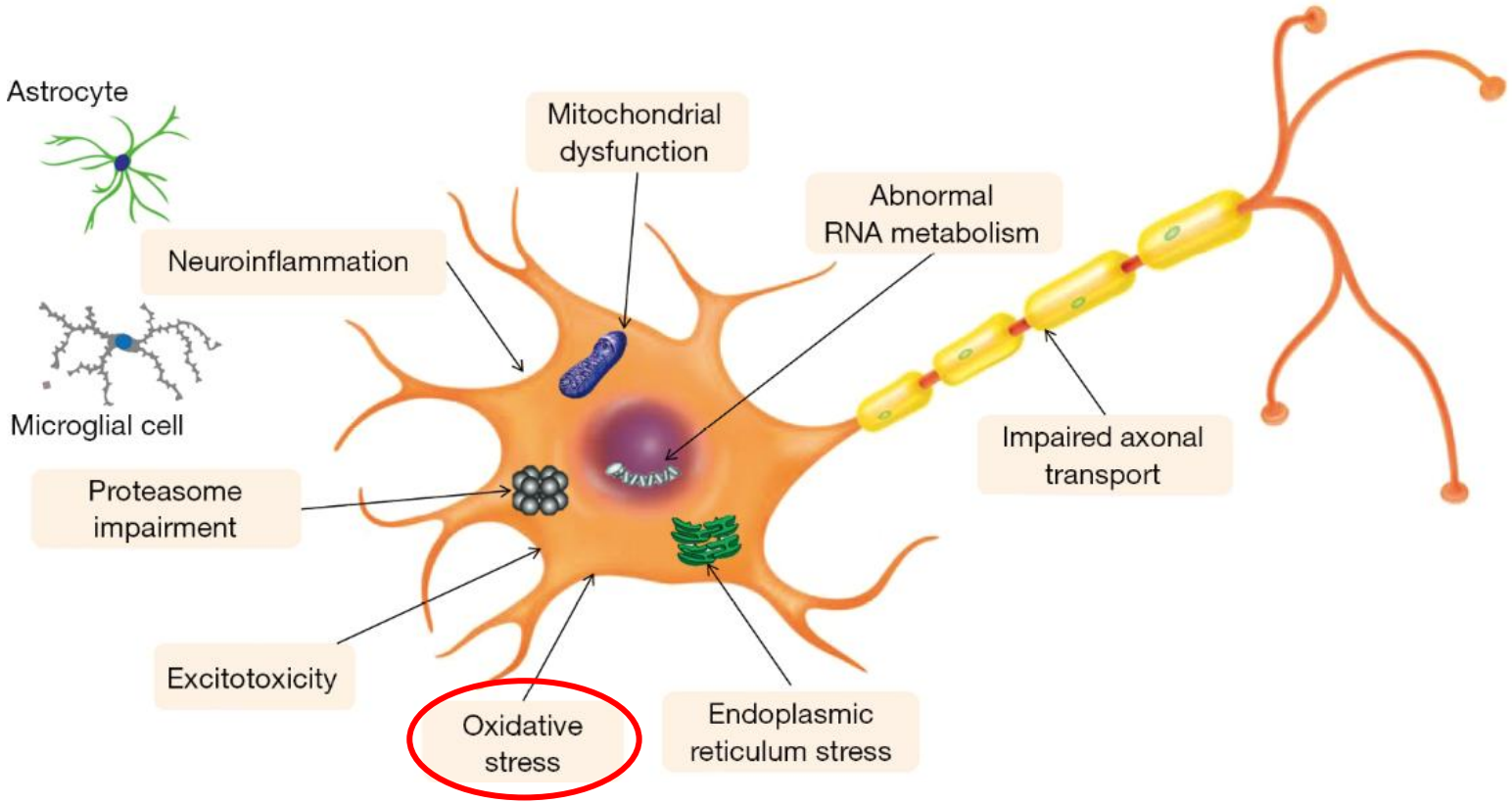
- odumírání dopaminergních neuronů v oblasti substantia nigra
- Lewyho tělíska (akumulace agregátů α-synucleinu)
- postupné zhoršování motorických funkcí (ale i kognitivních a smyslových)





Amyotrofická laterální skleróza

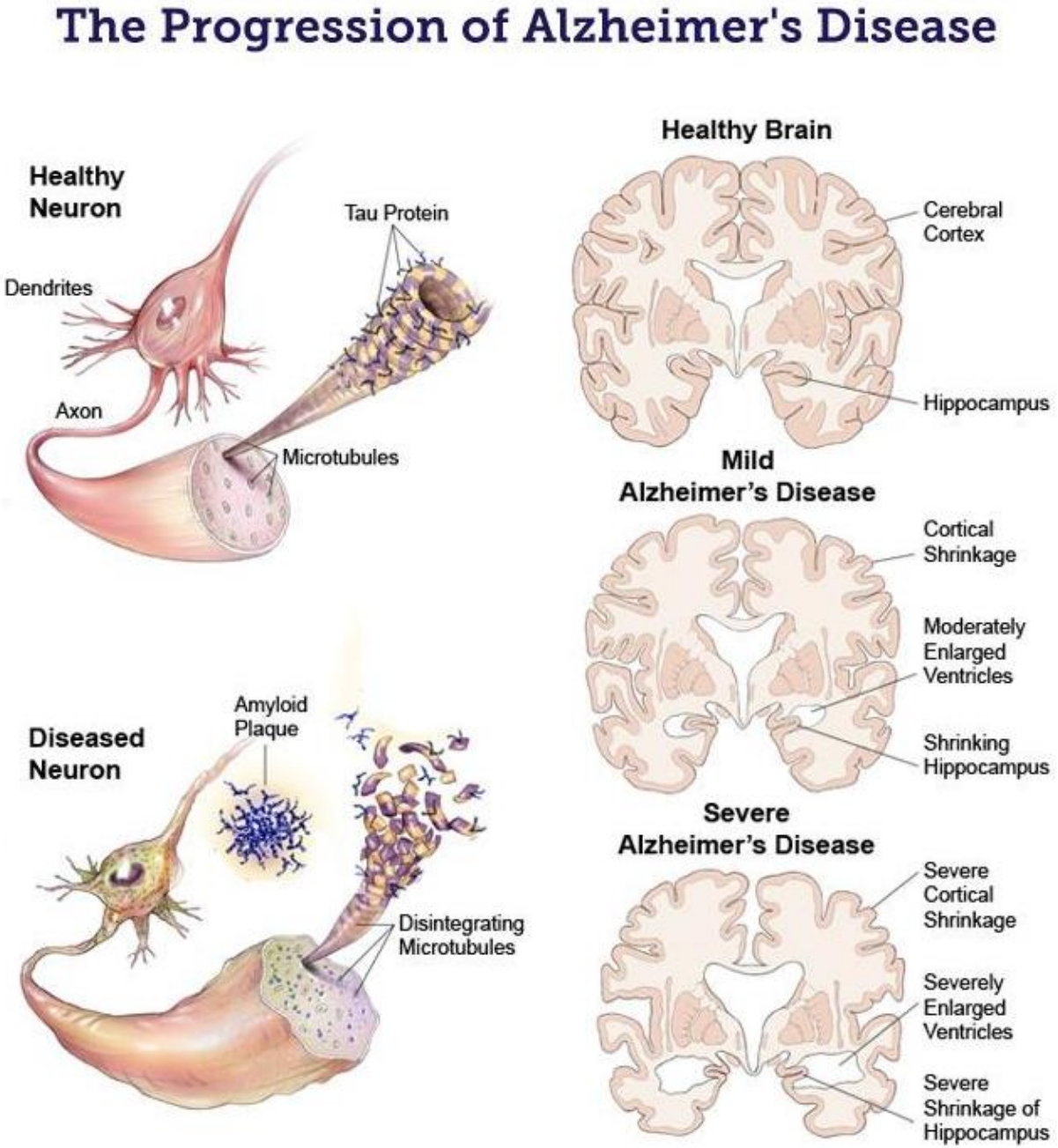
Onemocnění, při kterém odumírají motorické neurony kontrolující kosterní svalovinu. Většina pacientů nakonec umírá na respirační selhání.



Jednou z příčin (cca 2% případů) je **mutace v genu pro Cu-Zn superoxid dismutázu** (SOD1 – antioxidant metabolizující volné radikály vznikající v mitochondriích) – poškození neuronů volnými radikály a následná apoptóza.
Různé mutace SOD1 vyvolávají různě agresivní formy choroby.

Alzheimerova choroba

- neurodegenerativní onemocnění mozku - nejčastější typ demence
- Hromadění beta-amyloidu v mozkové tkáni vedoucí k odumírání neuronů, snížení signalizace na synapsích
- **příčina vzniku není přesně známa**
- Klíčová úloha kaspáz, potenciální cíl molekulární terapie
- Další strategie cílené léčby – blokování inhibitorů neurotransmiterů

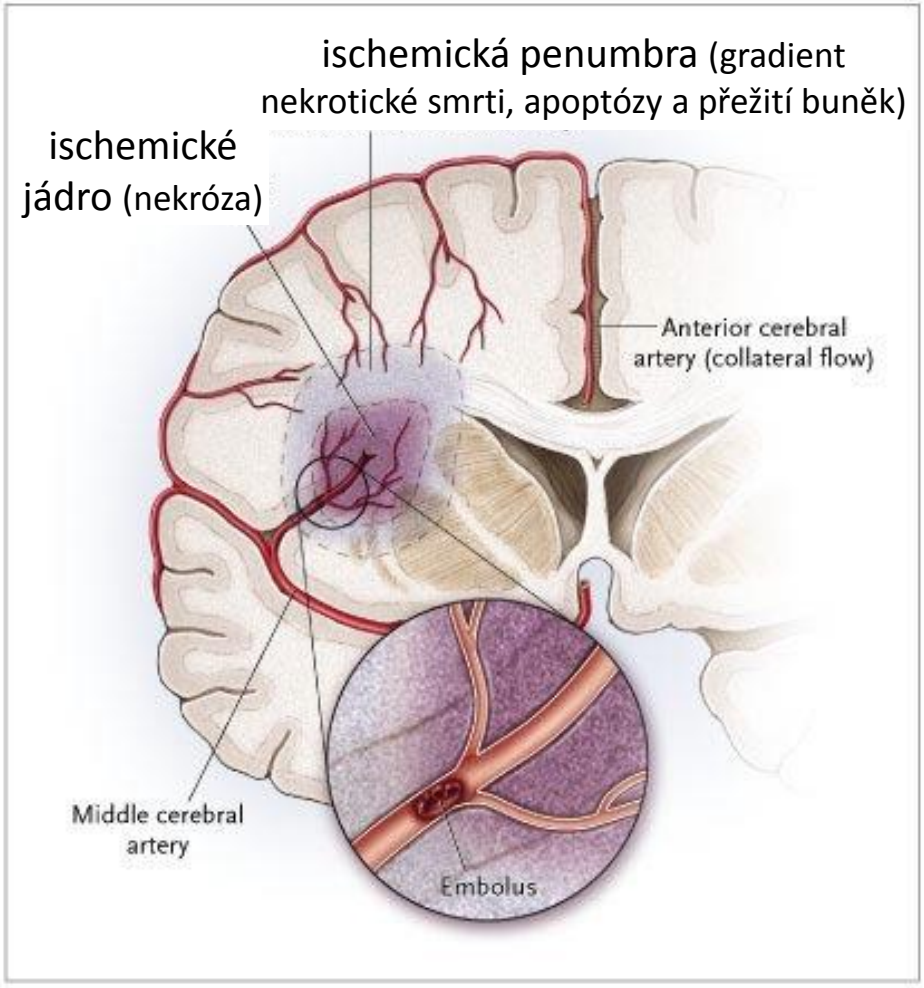


Cévní mozková příhoda

Poškození mozku vznikající v důsledku **ucpání** nebo **prasknutí** mozkové cévy – výsledkem je odumírání mozkových buněk.

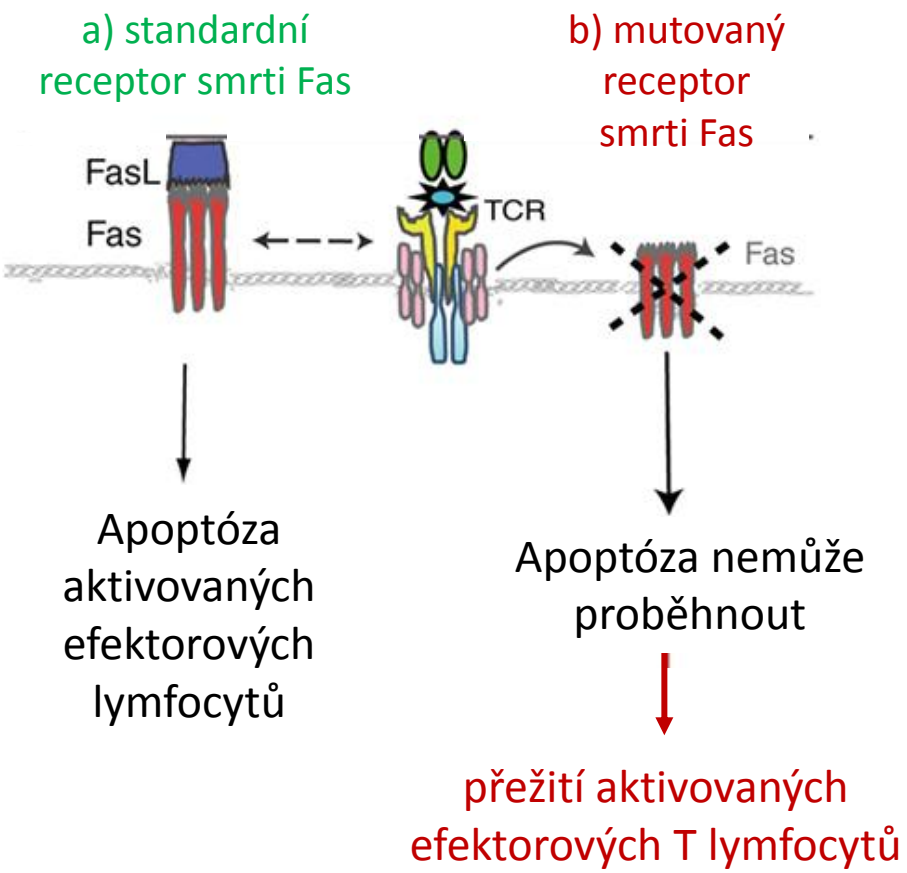
Odumírají postižené buňky nekroticky nebo apoptoticky?

V centru postižení buňky odumírají hlavně nekrózou, tím se ale do tkáně dostávají prozánětlivé a proapoptotické molekuly (např. TNFα), které v sousedních oblastech indukují apoptózu (a další formy buněčné smrti).



Autoimunitní lymfoproliferativní syndrom

- autoimunitní choroba
- zmnožení T lymfocytů, zvětšená slezina a játra
- různé autoimunitní symptomy
- celoživotně zvýšené riziko vzniku Hodgkinova a non-Hodgkinova lymfomu

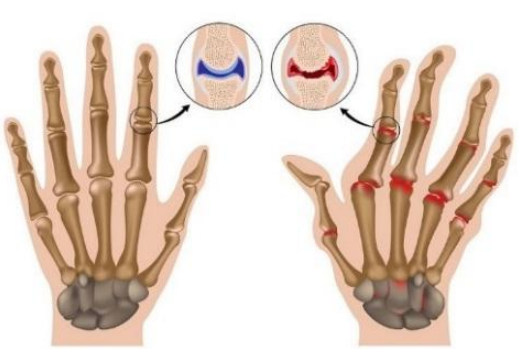


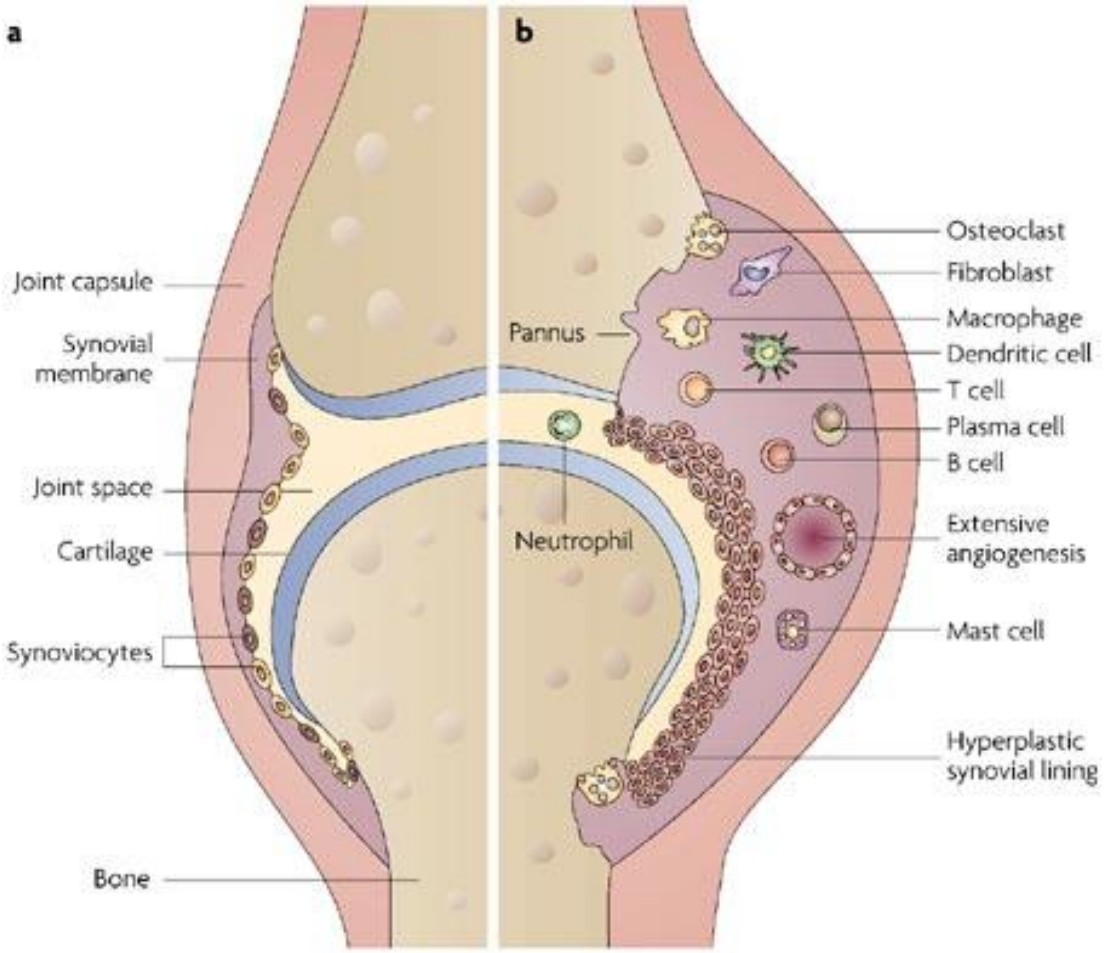
- příčinou je nejčastěji mutace v genech kódujících **FAS receptor nebo FAS ligand** – poruchy spouštění apoptózy přes receptor smrti

→ defekt apoptózy aktivovaných efektorových T lymfocytů

Autoimunitní choroba - revmatoidní artritida

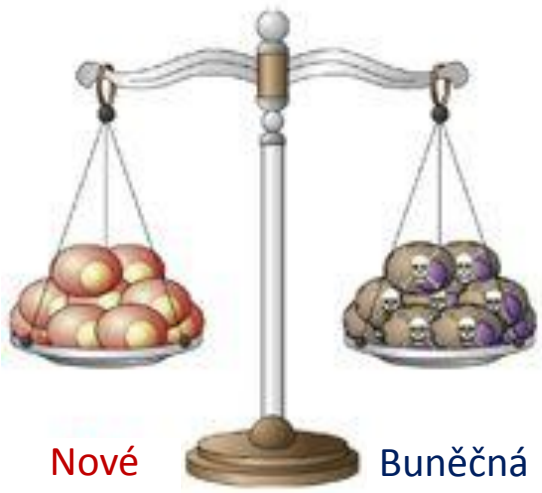
- **nedostatečná apoptóza** zánětlivých buněk (obzvláště makrofágů) v kloubech vedoucí k **destrukci kosti a chrupavky** (jeden z možných patofyziologických mechanismů)
- přesná příčina vzniku není dosud známa
- souhra genetických, environmentálních, hormonálních a infekčních (Borelie? EBV?) příčin u predisponovaného jedince





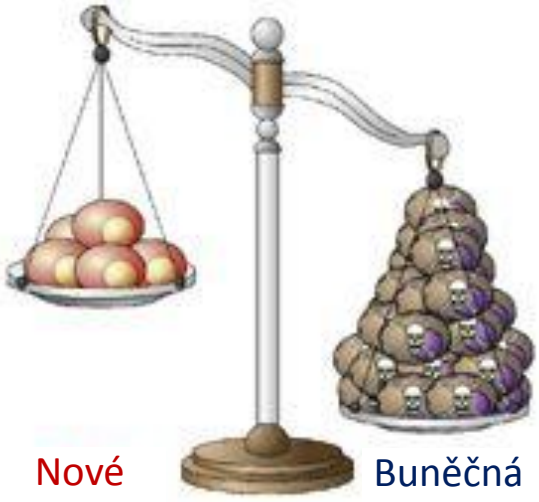
Apoptóza a souvislost s některými onemocněními

NORMÁLNÍ TKÁŇ

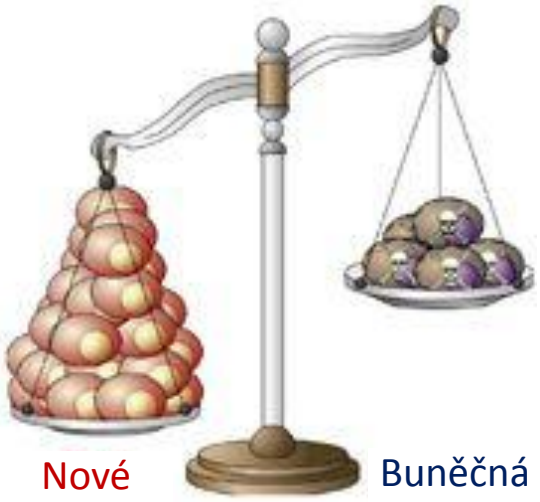


Homeostáza

CHOROBY S PORUCHAMI BUNĚČNÉ SMRTI



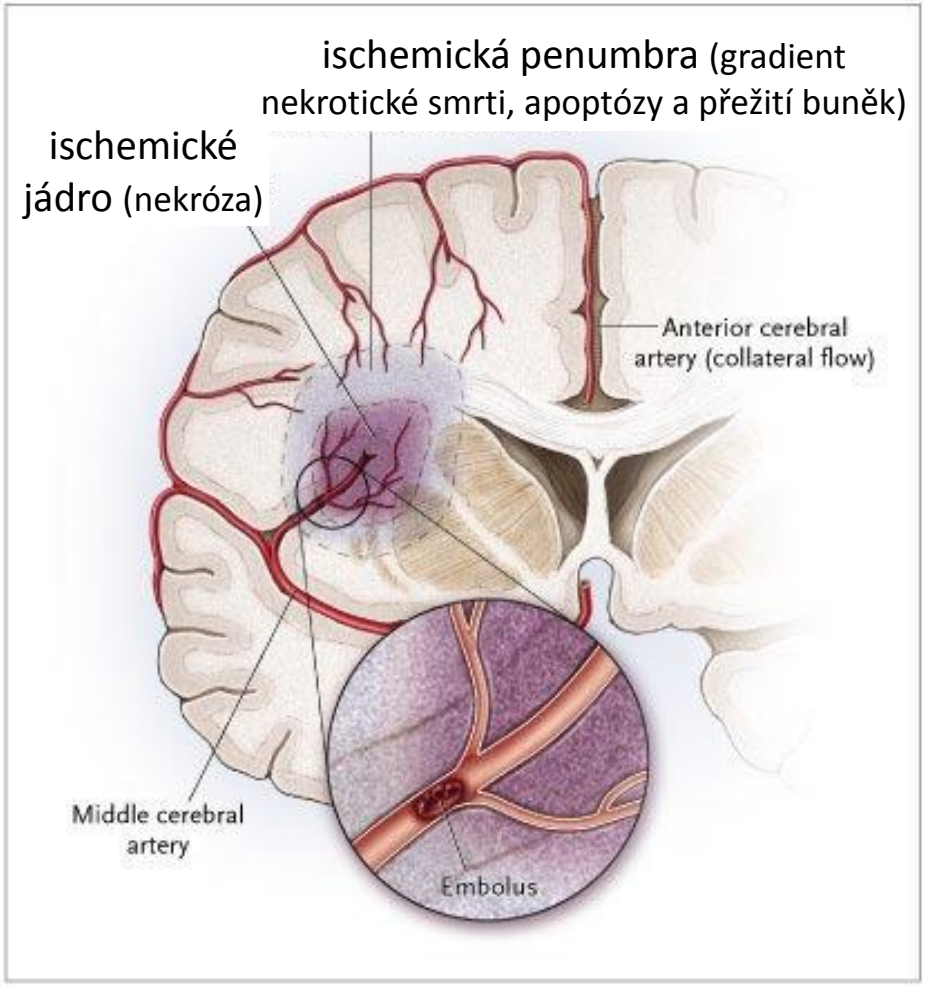
Cévní mozková příhoda
Parkinsonova choroba
Alzheimerova choroba
Huntingtonova choroba
Amyotrofická laterální skleróza



Rakovina

Autoimunitní choroby?

Deregulace buněčné smrti je u mnoha zmíněných nemocí spíše průvodní jev, nikoli příčina



...přesto může inhibice/aktivace apoptózy přispět k léčbě

Protinádorová terapie cílící na apoptózu

Cílem mnoha typů protinádorové terapie je selektivně **indukovat apoptózu nádorových buněk** bez současného poškození okolní zdravé tkáně organismu

Jak můžeme v nádorových buňkách vyvolat apoptózu?

A. Blokování kaspáz
B. Poškození DNA nádorových buněk
C. Blokování anti-apoptotických proteinů
D. Blokování FAS receptoru
E. Spuštění apoptózy nádorových buněk zvenčí (přes receptory smrti)

00:41

Jak můžeme v nádorových buňkách vyvolat apoptózu?

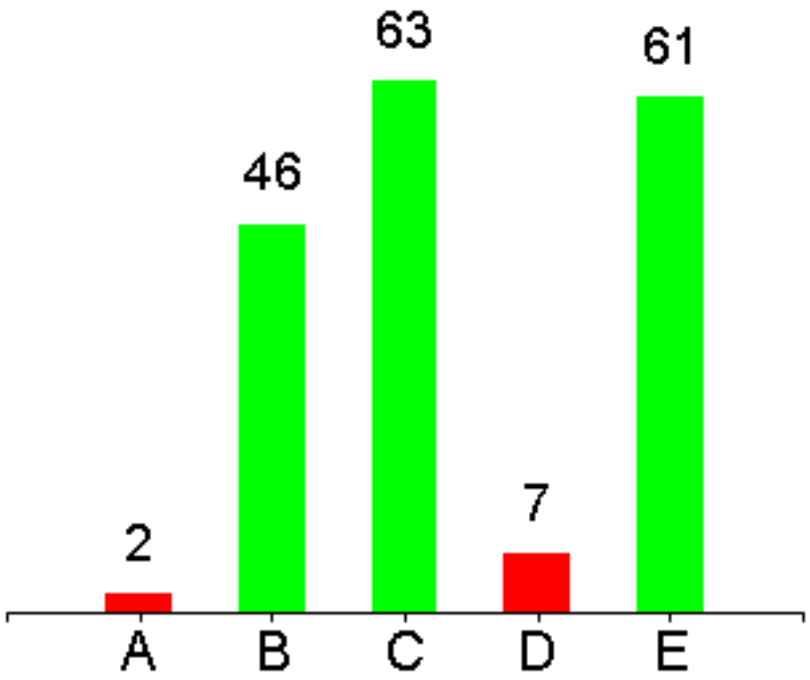
A. Blokování kaspáz

✓ B. Poškození DNA nádorových buněk

✓ C. Blokování anti-apoptotických proteinů

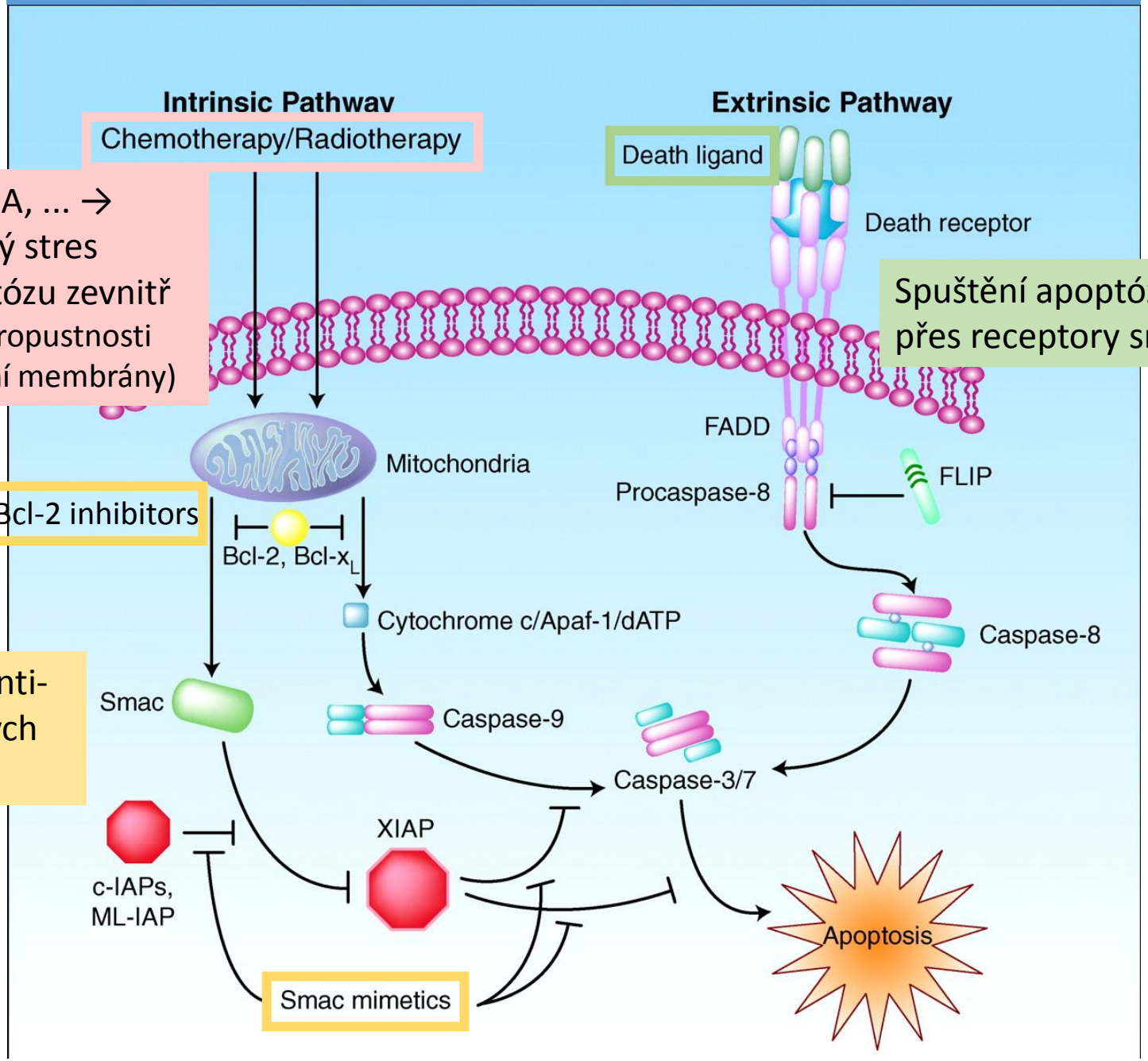
D. Blokování FAS receptoru

✓ E. Spuštění apoptózy nádorových buněk zvenčí (přes receptory smrti)



Not Voted:33 (33,0%)

Cíle protinádorové terapie spouštějící apoptózu nádorových buněk



poškození DNA, ... → vnitrobuněčný stres spouští apoptózu zevnitř (skrze změny propustnosti mitochondriální membrány)

Spuštění apoptózy přes receptory smrti

Blokování anti-apoptotických proteinů

Specifické zablokování anti-apoptotického Bcl-2 proteinu (venetoclax)

Review

Cancer Research

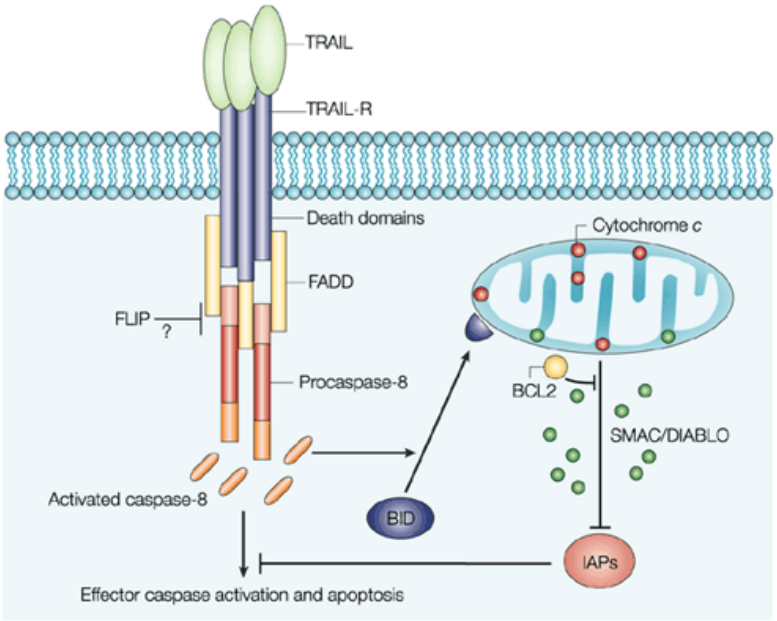
Finally, An Apoptosis-Targeting Therapeutic for Cancer

Carlo M. Croce[1] and John C. Reed[2,3]

Abstract

Resistance to cell death represents one of the hallmarks of cancer. Various genetic and epigenetic changes in malignant cells afford cytoprotection in the face of genomic instability, oncogene activation, microenvironment stress, chemotherapy, targeted anticancer drugs, and even immunotherapy. Central among the regulators of cell life and death are Bcl-2 family proteins, with the founding member of the family (B-cell lymphoma/leukemia-2) discovered via its involvement in chromosomal translocations in lymphomas. The quest for therapeutics that target cell survival protein Bcl-2 represents a long road traveled, with many dead-ends, disappointments, and delays. Finally, a Bcl-2–targeting medicine has gained approval as a new class of anticancer agent. *Cancer Res; 76(20); 1–7.*
©2016 AACR.

Specifické spuštění apoptózy nádorových buněk přes receptory smrti



Nature Reviews | Cancer

Cell Death and Differentiation (2016) 23, 733–747
© 2016 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 1350-9047/16
www.nature.com/cdd

Onto better TRAILs for cancer treatment

D de Miguel[*,1,2], J Lemke[3,5], A Anel[1,2], H Walczak[3] and L Martinez-Lostao[*,1,2,4,6]

Tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), also known as Apo-2 ligand (Apo2L), is a member of the TNF cytokine superfamily. By cross-linking TRAIL-Receptor (TRAIL-R) 1 or TRAIL-R2, also known as death receptors 4 and 5 (DR4 and DR5), TRAIL has the capability to induce apoptosis in a wide variety of tumor cells while sparing vital normal cells. The discovery of this unique property among TNF superfamily members laid the foundation for testing the clinical potential of TRAIL-R-targeting therapies in the cancer clinic. To date, two of these therapeutic strategies have been tested clinically: (i) recombinant human TRAIL and (ii) antibodies directed against TRAIL-R1 or TRAIL-R2. Unfortunately, however, these TRAIL-R agonists have basically failed as most human tumors are resistant to apoptosis induction by them. It recently emerged that this is largely due to the poor agonistic activity of these agents. Consequently, novel TRAIL-R-targeting agents with increased bioactivity are currently being developed with the aim of rendering TRAIL-based therapies more active. This review summarizes these second-generation novel formulations of TRAIL and other TRAIL-R agonists, which exhibit enhanced cytotoxic capacity toward cancer cells, thereby providing the potential of being more effective when applied clinically than first-generation TRAIL-R agonists.

Isaac Asimov:

„Life is pleasant. Death is peaceful.
It‘s the transition that‘s troublesome.“