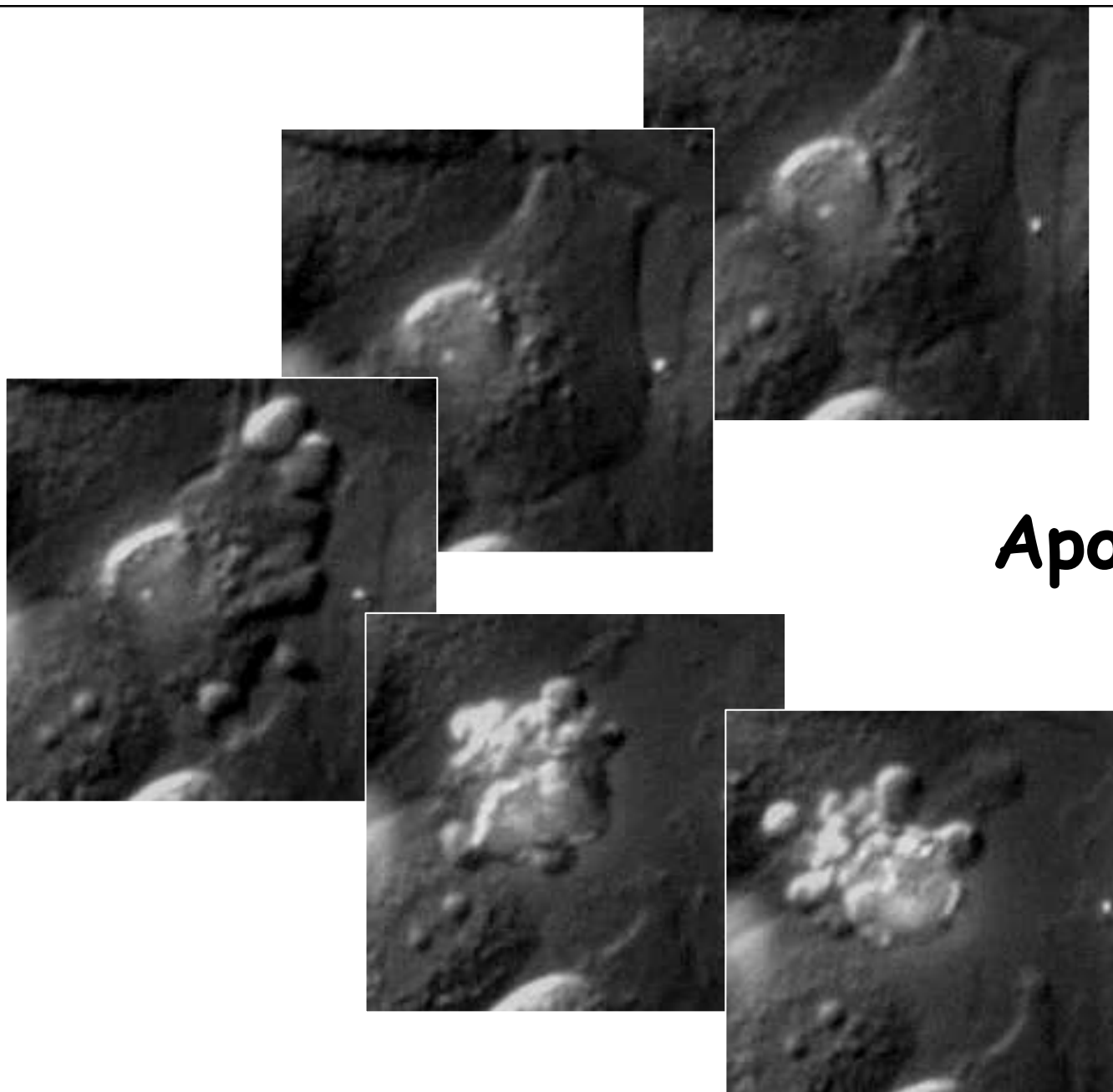


# Apoptóza - programovaná buněčná smrt

- fyziologický proces umírání buňky, ke kterému dochází během vývoje a při stárnutí organismu
- podmínka udržování homeostáze

## Proč?

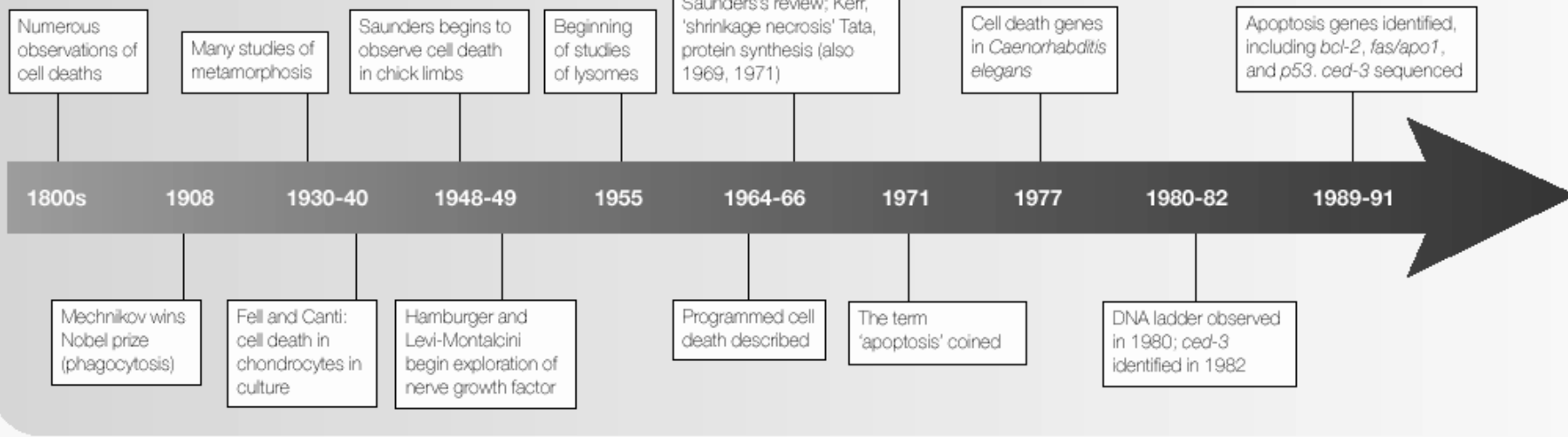
- stresové podněty z okolního prostředí
- poškození DNA
- vývojové procesy
- reakce na viry/patogeny



## Apoptóza

1972: John Kerr & Andrew Wilie and Alastair Currie popsali tuto podobu smrti jako proces, který vyžaduje aktivní účast samotné odumírající buňky.

Timeline | **History of cell death research**



# Význam apoptózy

- kontrola nadměrné proliferace: koordinační role při formování orgánů a tkání („sculpting“)
- vývoj imunitního systému: odstraňování auto-reaktivních T-buněk
- eliminace přestárklých buněk
- eliminace poškozených nebo geneticky aberantních buněk

# Nežádoucí procesy spojené s apoptózou

- přílišná apoptóza poškozuje tkáně (degenerativní procesy)
- nedostatečná apoptóza buňky predisponuje k hromadění genetických poruch a tvorbě nádorů



Table 1. Apoptosis in disease

Too much	Too little
AIDS	Canale-Smith syndrome
Liver failure	(CSS; autoimmune lymphoproliferative syndrome)
Wilson disease	Lymphoma
Myelodysplastic syndromes	Leukemia
Neurodegenerative diseases	Solid tumors
Multiple sclerosis	Autoimmune diseases
Aplastic anemia	(e.g., hypereosinophilia syndrome, lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, Graves disease)
Chronic neutropenia	
Type I diabetes mellitus	
Hashimoto thyroiditis	
Ulcerative colitis	

Listed are diseases in which dysregulation of apoptosis has been shown or is currently being discussed as being involved.

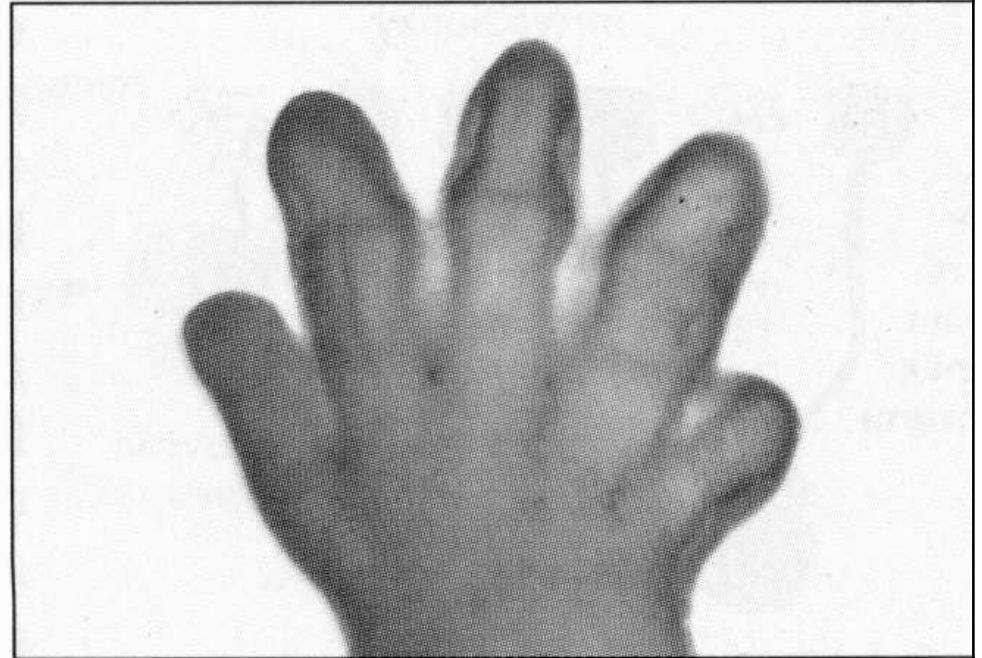
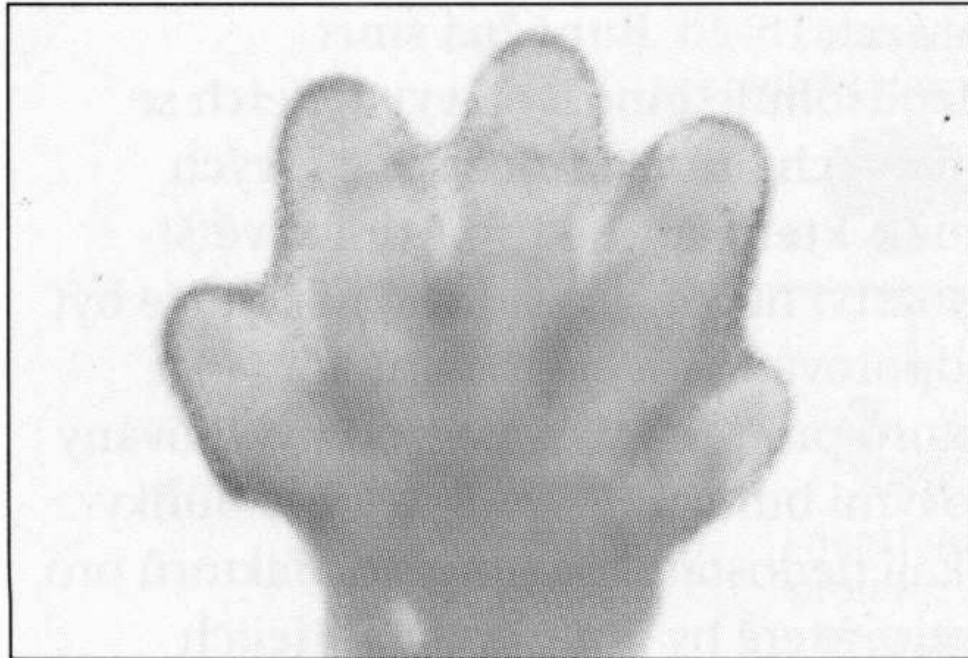
# Apoptóza - charakteristika

- obvyklá při organogenezi a nedostatku růstových faktorů
- fyziologické odstranění nežádoucích buněk (např. buňky poškozené nebo infikované) bez rizika pro buňky sousední
- opak nekrózy (následek poranění, kdy buňky prasknou, vylijí svůj obsah do okolí a způsobí tak zánět)

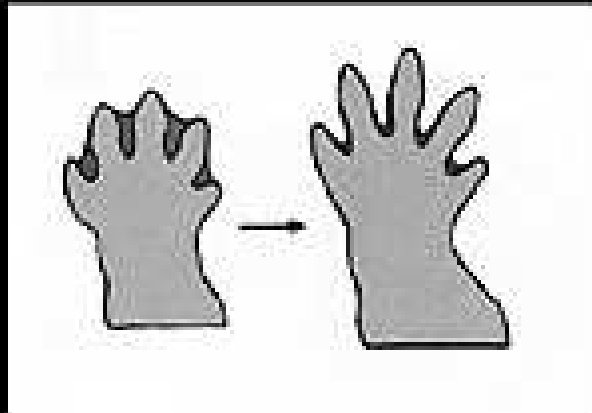
# Apoptóza a formování tkání

Vyvíjející se končetina myši:

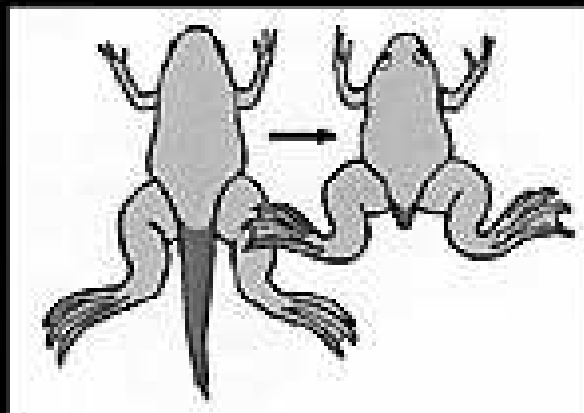
buňky podléhající apoptóze byly obarveny červeně v intervalu 24 hodin



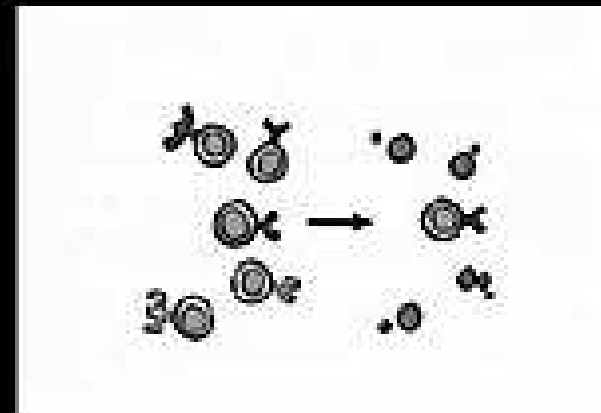
## Some Functions of PCD in Animal Development



**Sculpting**



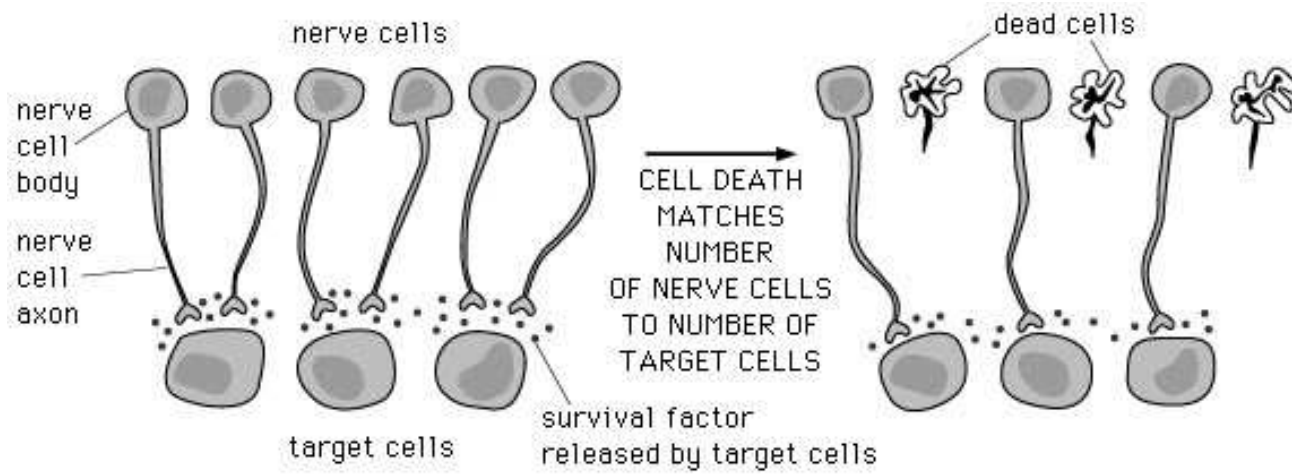
**Deleting  
Unwanted  
Structures**



**Eliminating  
Dangerous  
Cells**

Adapted from Jacobson et al.





# Apoptóza versus nekróza

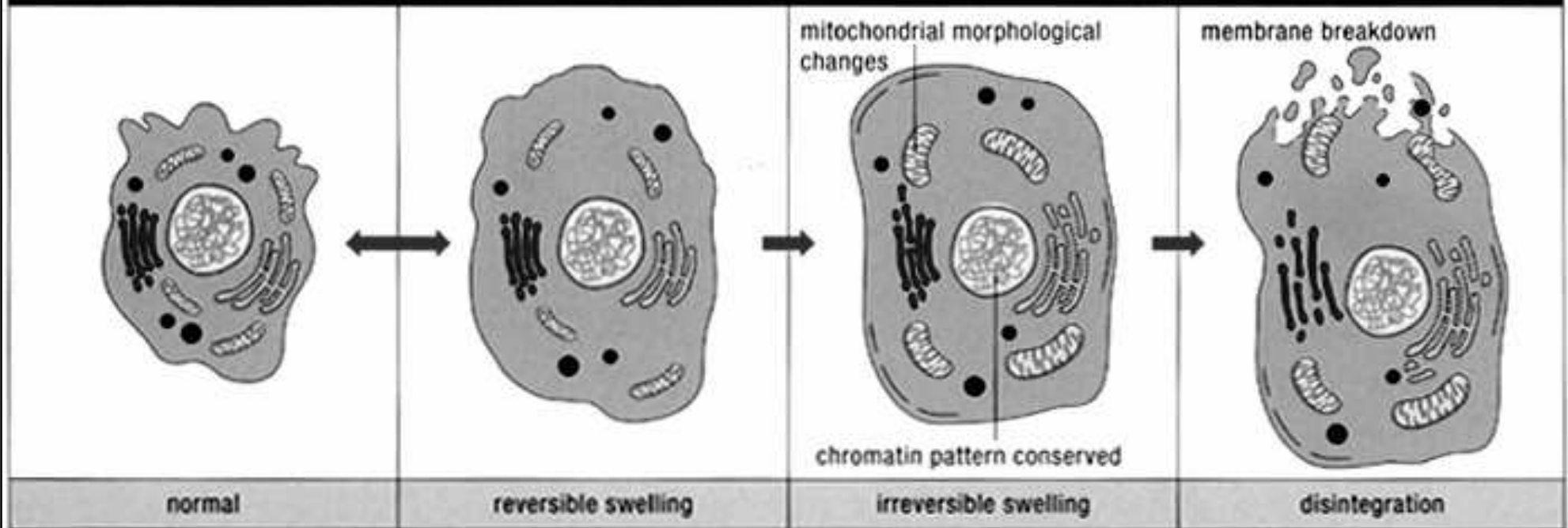
## Apoptóza („sebevražda“):

- programovaný proces
- kondenzace chromatinu
- fragmentace jádra
- odbourání cytoskeletu („scvrknutí“ buňky)
- fragmentace chromozomální DNA (180 bp)
- mitochondrie zůstávají intaktní
- buněčná membrána se vychlipuje
- umírající buňka je fagocytována sousedními buňkami

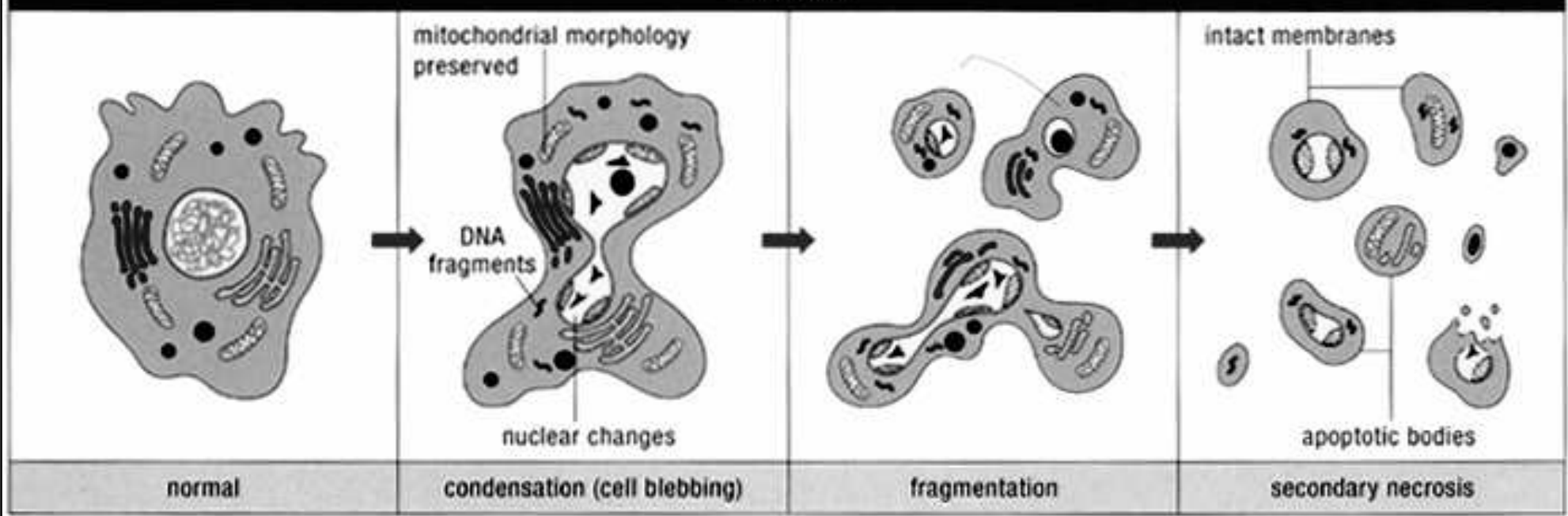
## Nekróza („vražda“):

- smrt buňky obvykle vyvolaná zraněním
- bobtnání organel
- poškození mitochondrií
- celková dezintegrace buňky
- uvolnění nitrobuněčných komponent
- vznik zánětu

## Necrosis

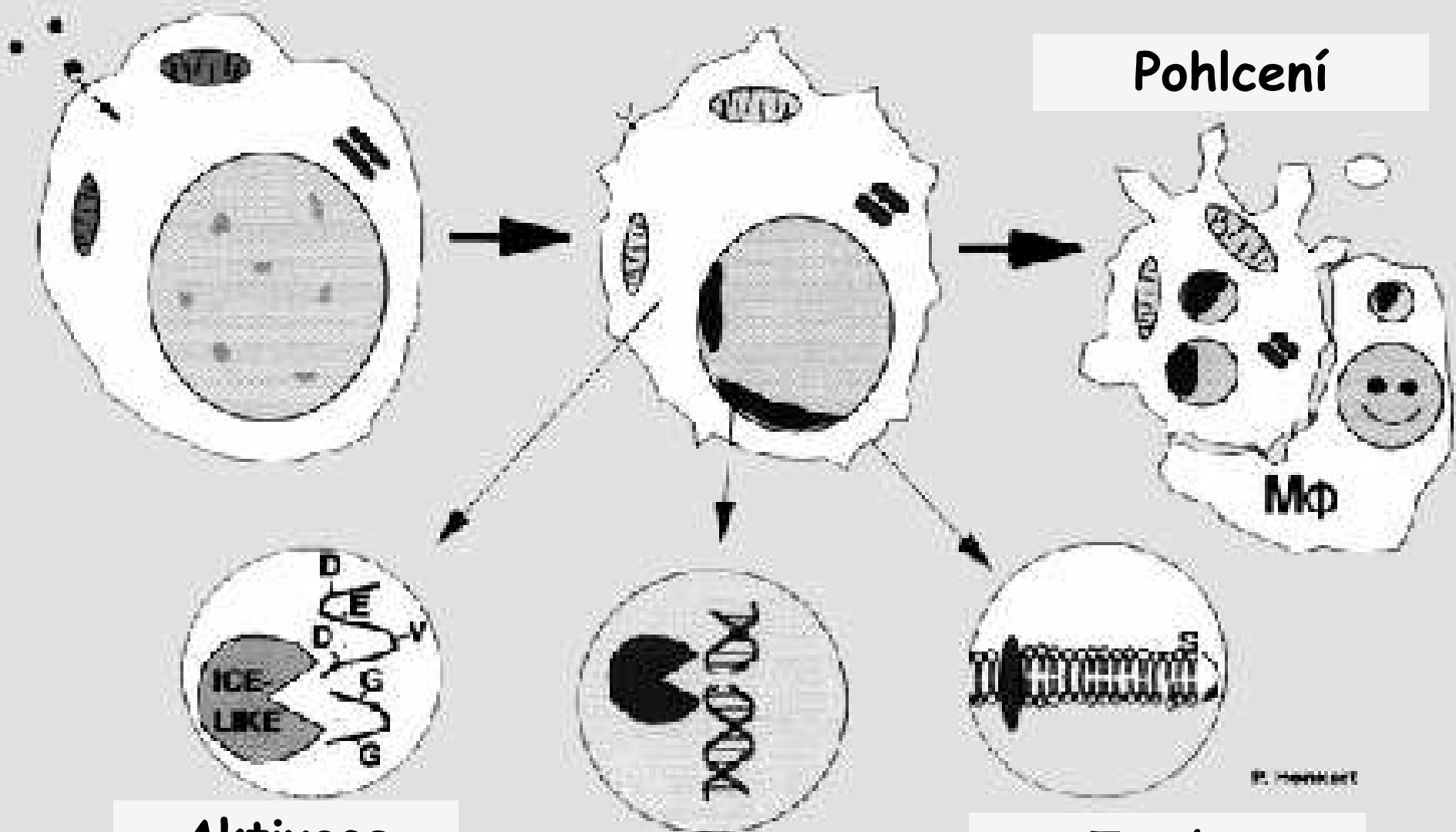


## Apoptosis



# Signál smrti

## Pohlčení



Aktivace  
enzymů

Fragmentace  
chromatinu

Tvorba  
výběžků, změny  
povrchových  
struktur

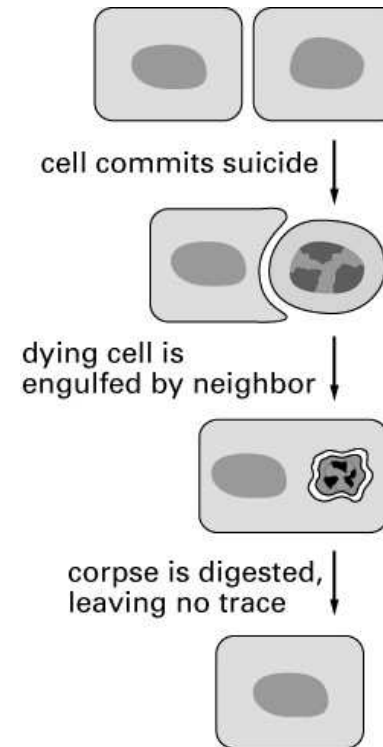
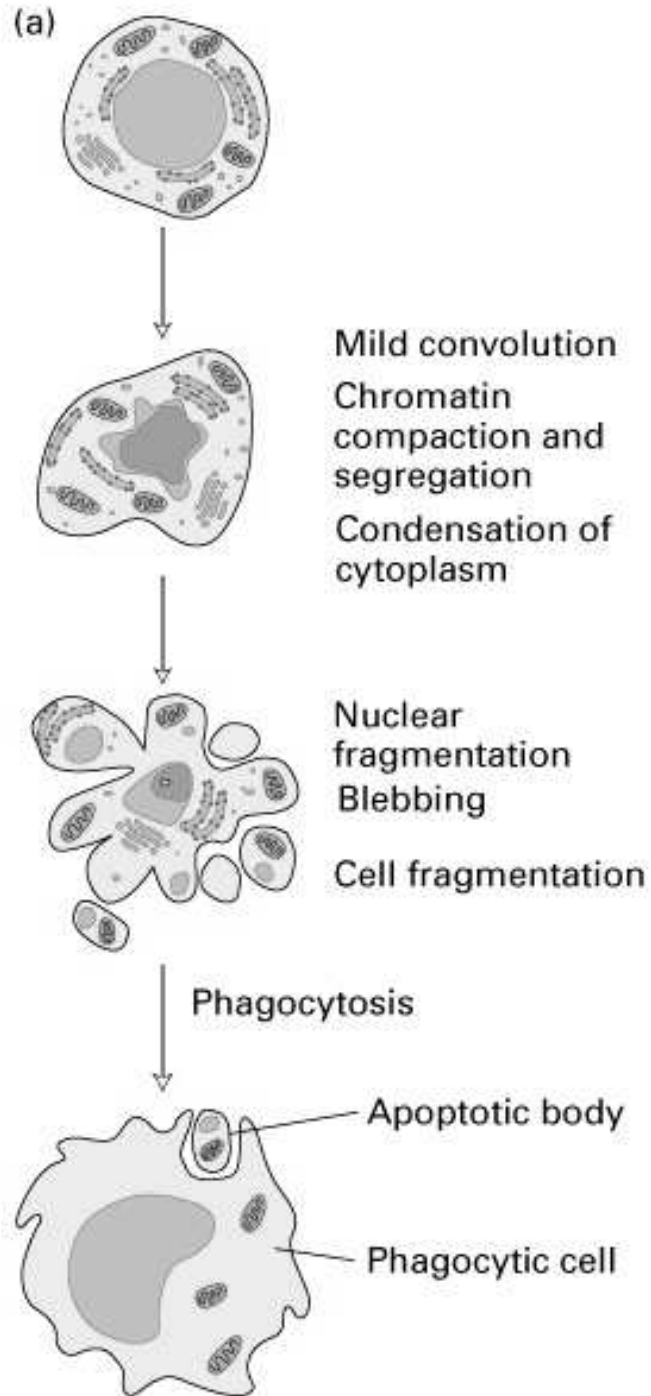
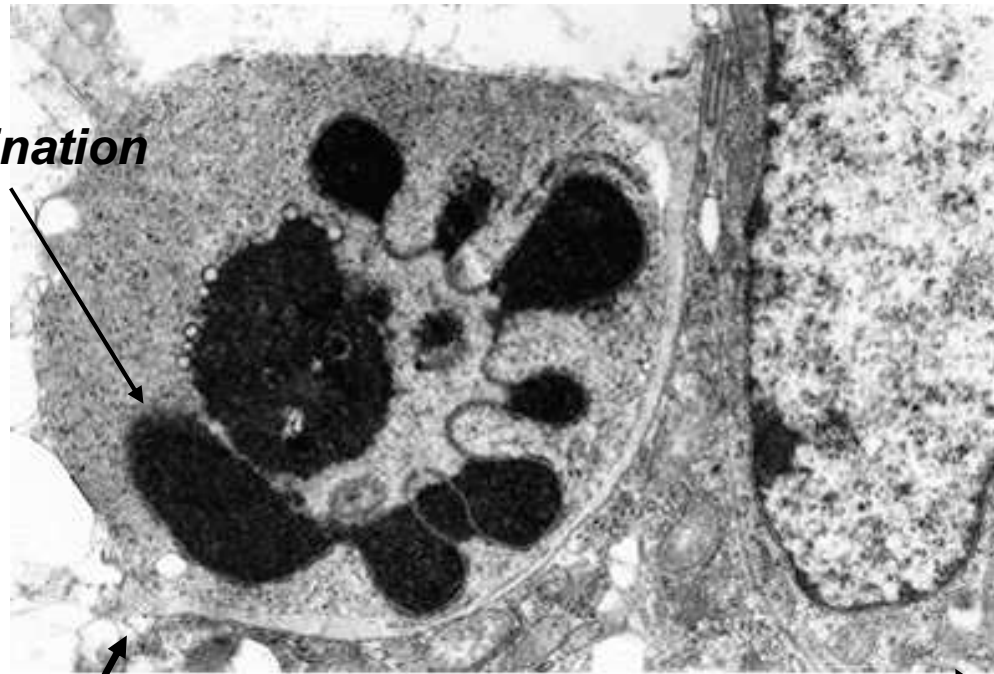


Figure 21-22. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# Kondenzace chromatinu

*Chromatin margination*

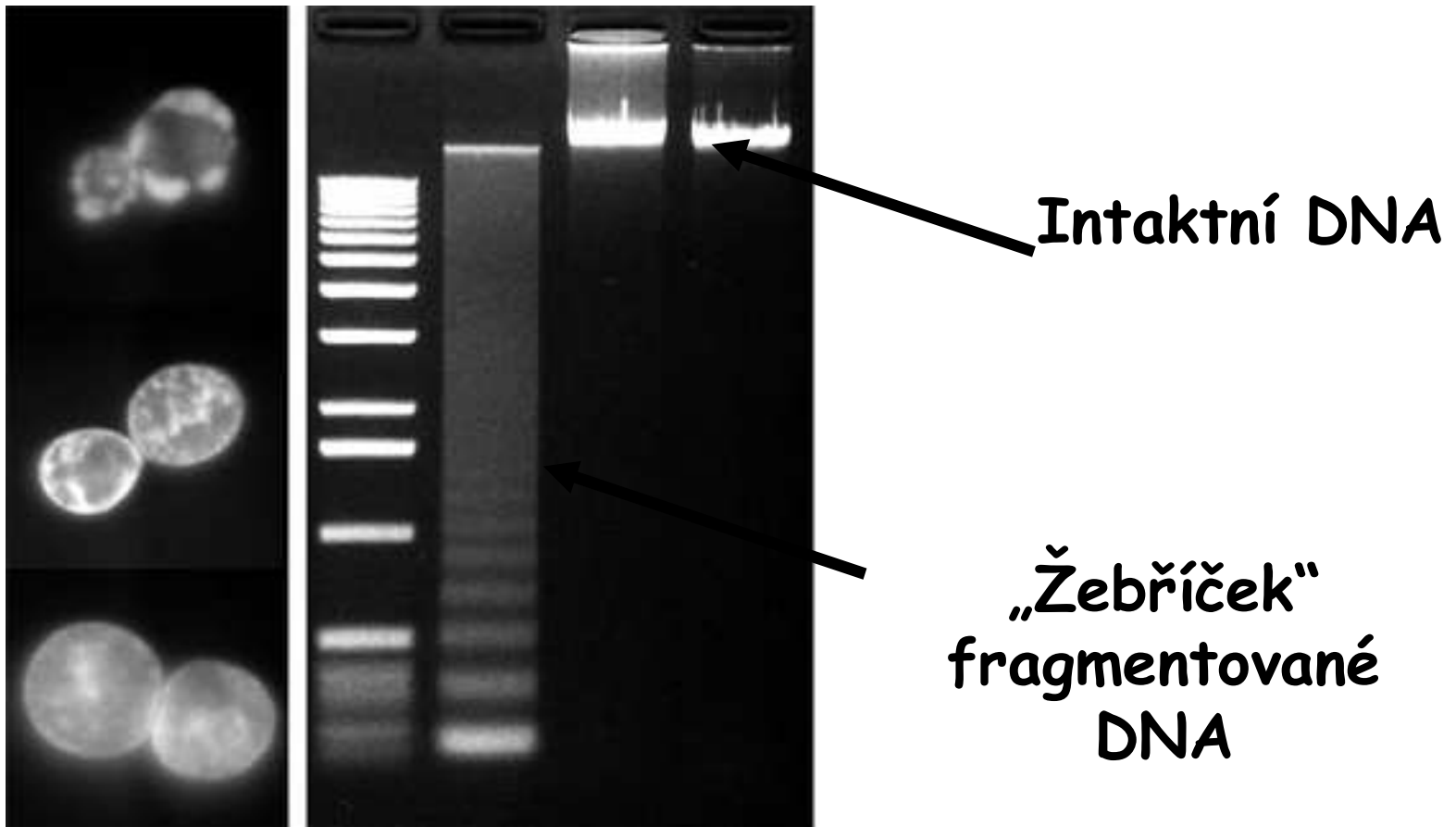


**Apoptotic**

**Normal**

*Alberts et al. Fig 22-35*

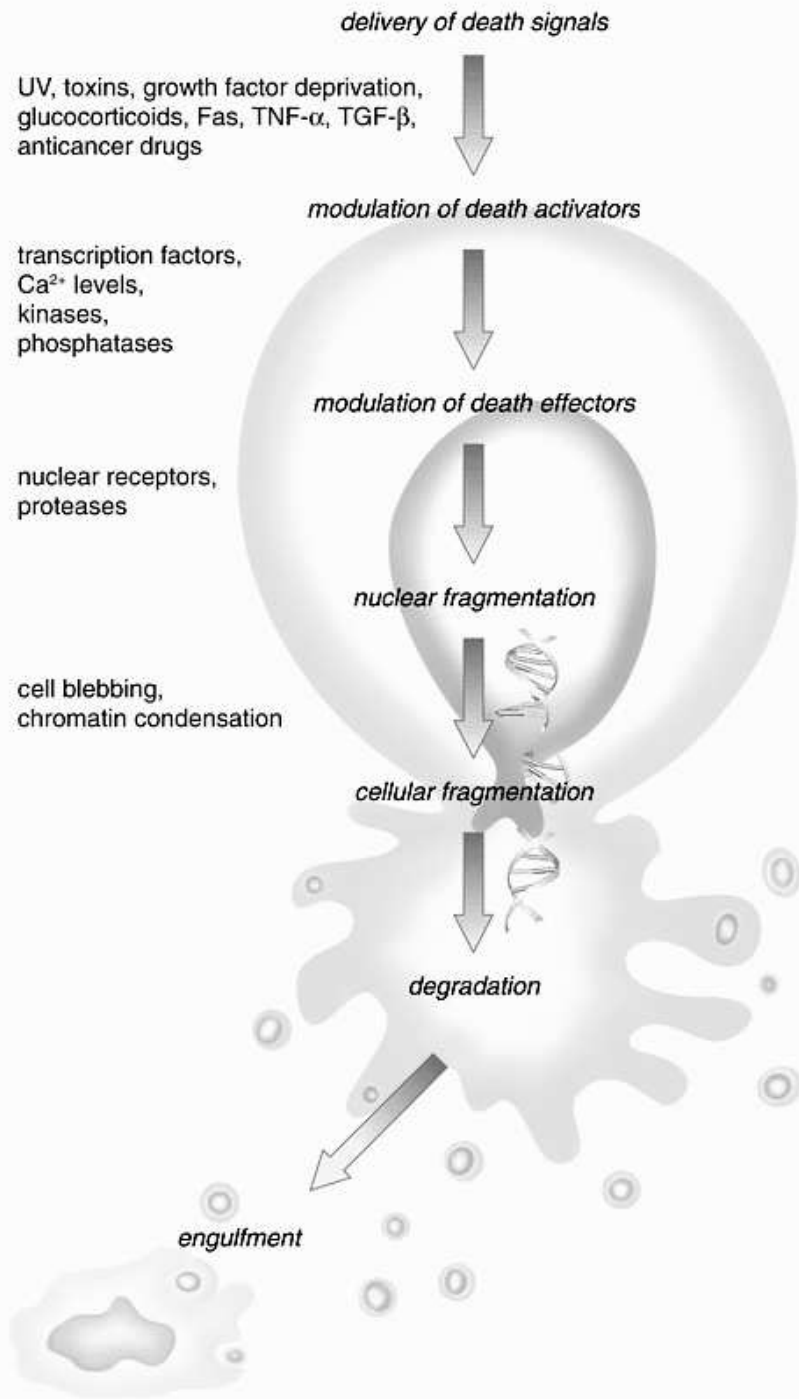
# Fragmentace chromatinu



# Detekce apoptózy

- barvení kondenzovaných jader fluorescenčními barvivy (např. Hoechst, DAPI)
- barvení fosfatidyl-serinu, který apoptotické buňky vystavují na svém povrchu, anexinem V
- detekce fragmentované DNA technikou TUNEL nebo elektroforézou
- měření potenciálu mitochondriální membrány





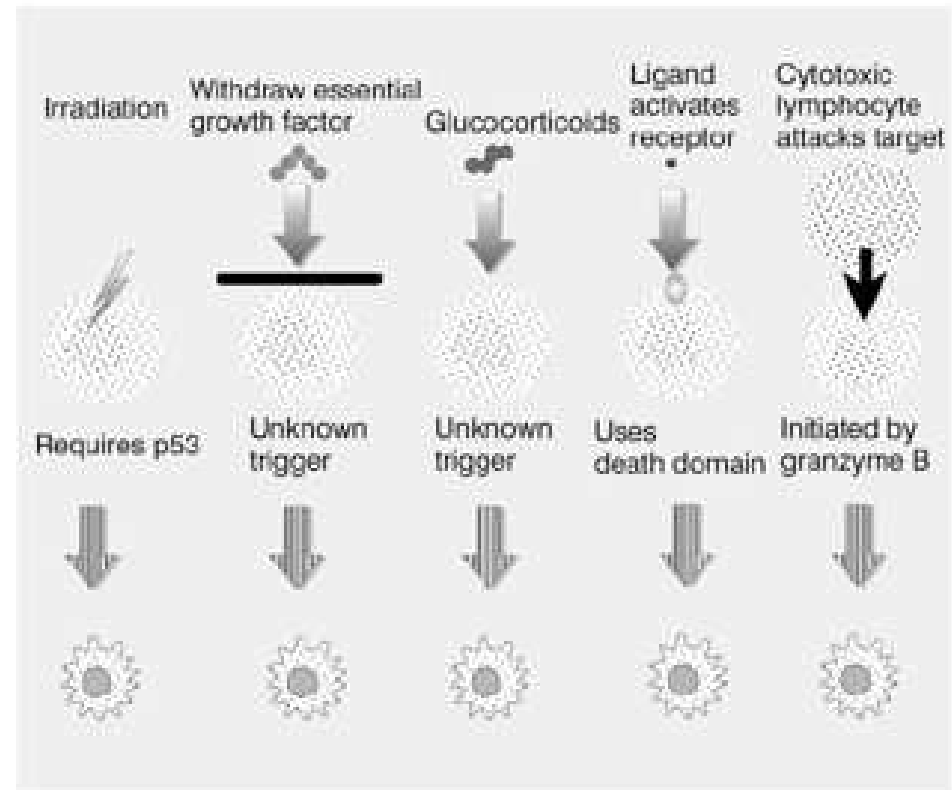
## Návaznost procesů spojených v buňce s apoptózou

- detekce signálu smrti
- ovlivnění aktivátorů smrti
- ovlivnění efektorů smrti
- fragmentace jádra
- fragmentace buňky
- degradace
- pohlcení jinými buňkami

## Pro-apoptotické stimuly (signály smrti):

- UV a ionizující záření
- nedostatek růstových faktorů
- glukokortikoidy
- specifické ligandy (Fas, TNF)
- cytotoxické lymfocyty atakující své cíle
- exprese některých onkogenů a nádorových supresorů (p53, Rb)

Figure 27.36 Apoptosis is triggered by a variety of pathways.

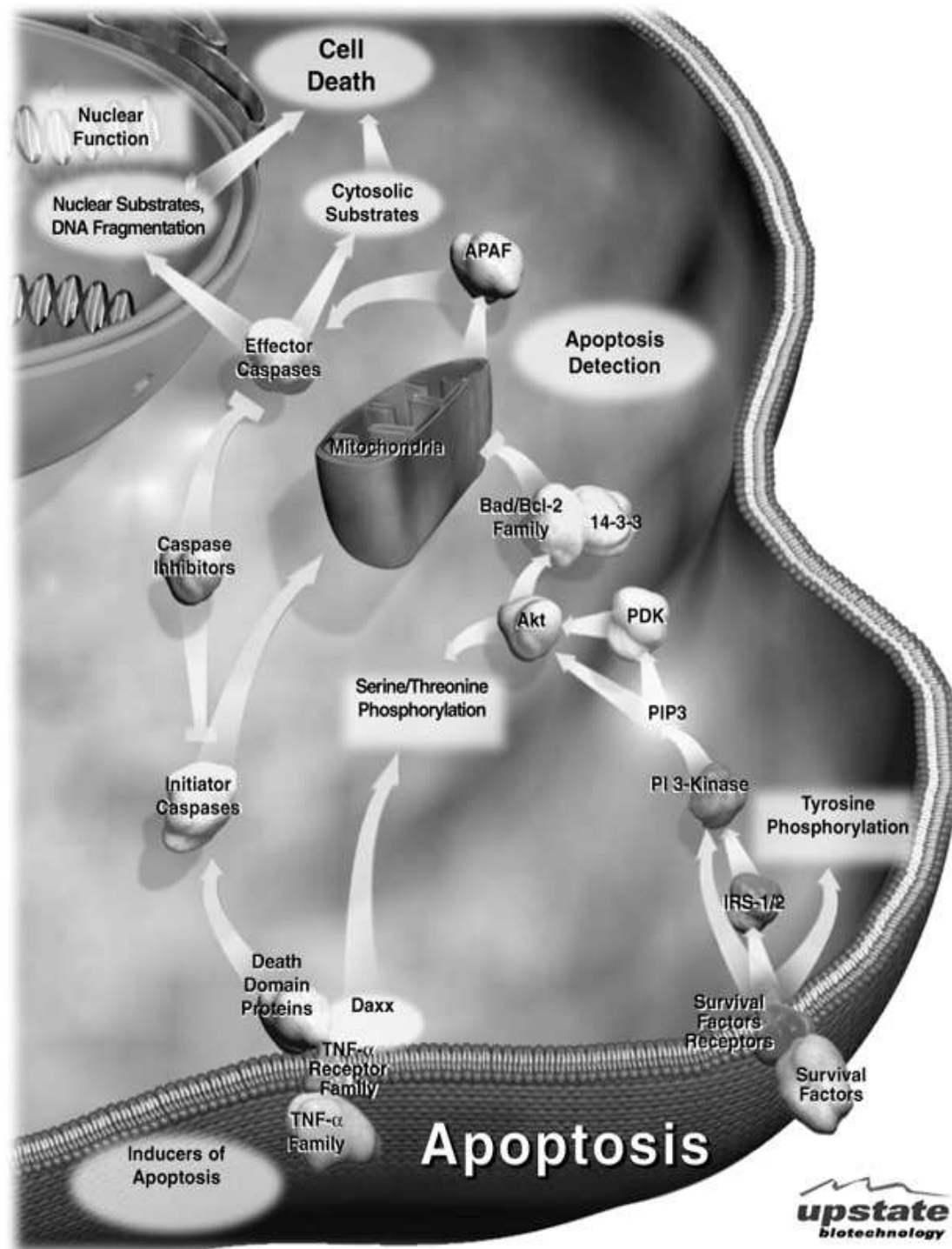


# Dvě hlavní nitrobuněčné dráhy indukující apoptózu

- dráha nezávislá na p53 aktivovaná mimobuněčnými ligandy (Fas nebo TNF $\alpha$ ) a jejich receptory
- dráha závislá na p53 aktivovaná stresovými faktory (např. kamptotecin, UV záření) a využívající proteiny rodiny BCL-2

# Hlavní složky apoptotické dráhy

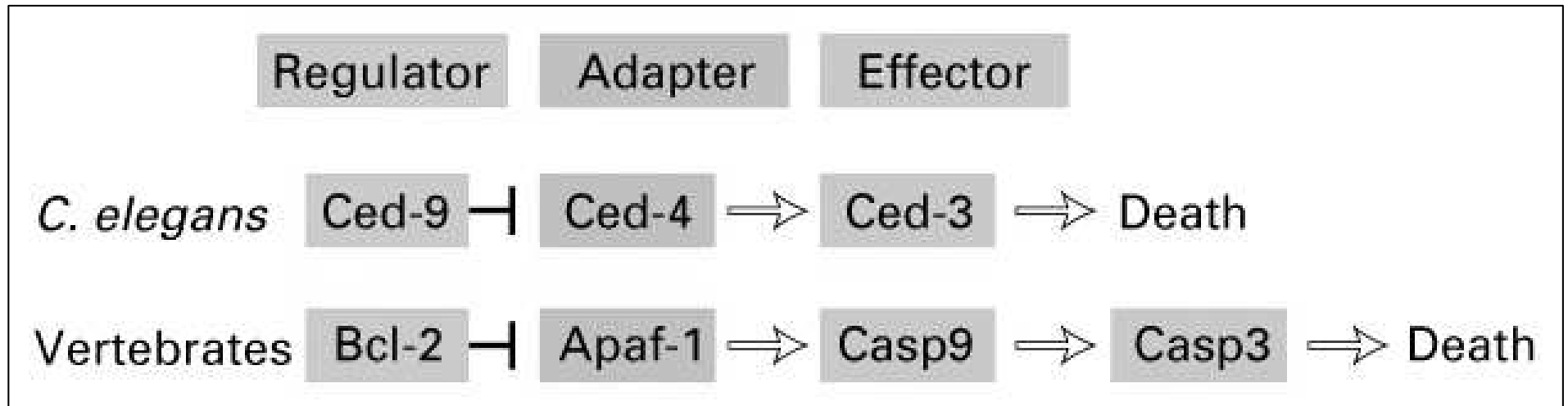
- BCL-2
- Apaf-1
- kaspázy



- **Receptory smrti - proteiny, které disponují doménou smrti („a death domain“), vyznačující se konzervativní sekvencí 70 aminokyselin**
- **Dráhy smrti - paralelní nitrobuňčné signální dráhy (pokud je jedna dráha blokována, schopnost odumírání je jen zpomalena, nikoliv zcela inhibována)**

# V apoptotické signalizaci se uplatňují tři skupiny proteinů:

- regulátory
- adaptéry
- efekторы





## *Caenorhabditis elegans* - model pro studium apoptózy

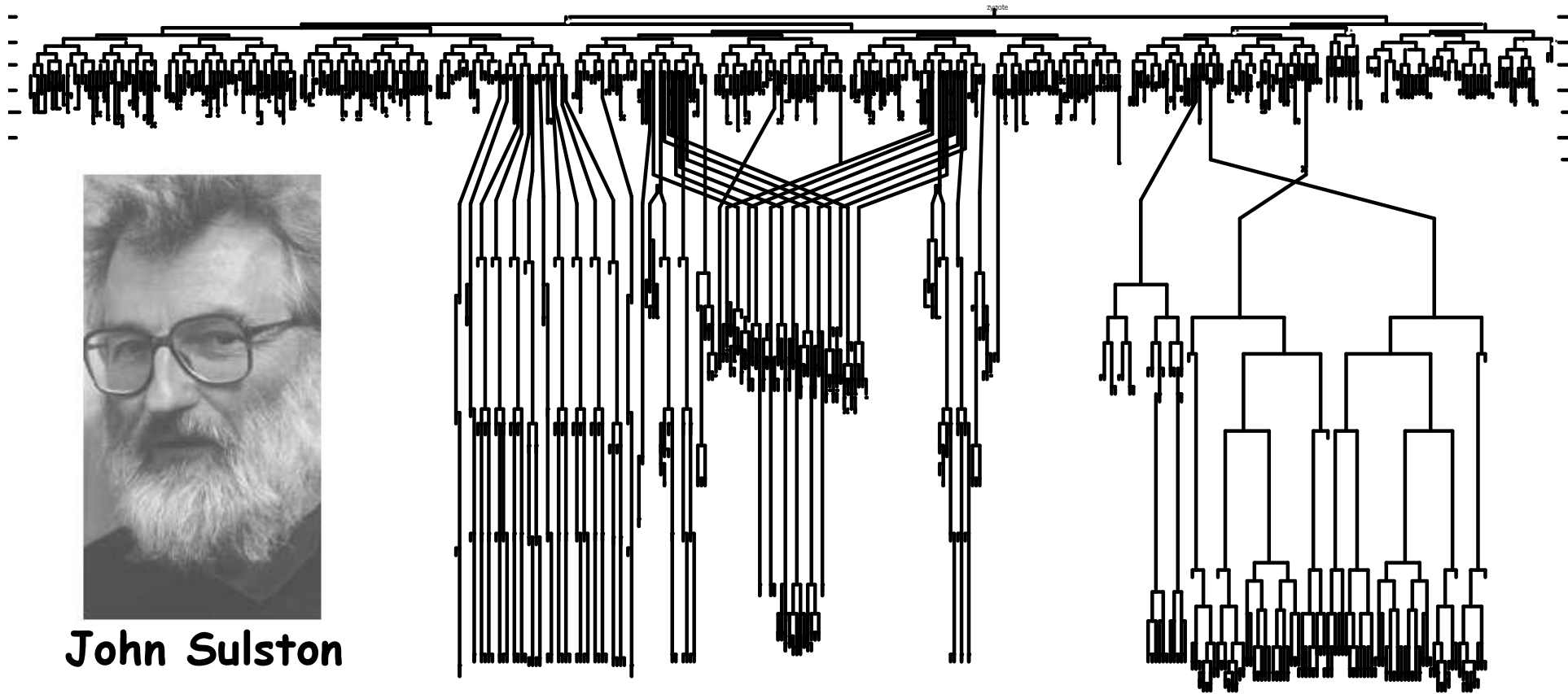
- méně než 1000 buněk u dospělé hlístice
- hermafrodit
- krátká generační doba
- známa úplná sekvence genomu

**Sydney Brenner:**





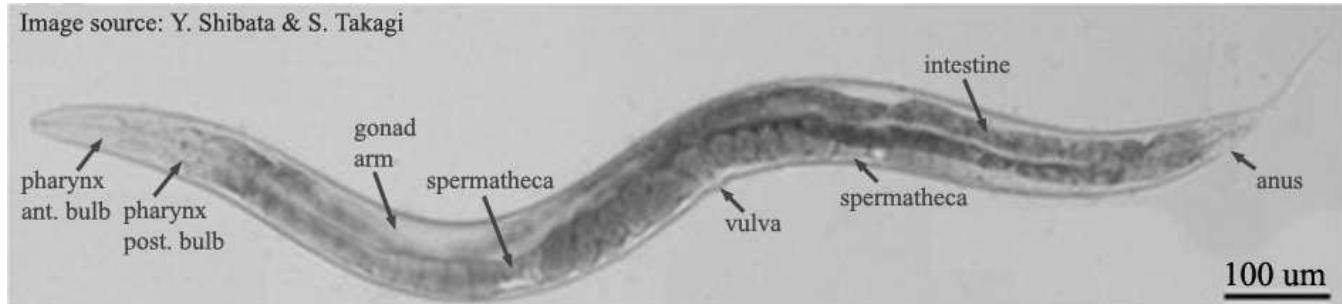
Zygota



John Sulston

1090 buněk,  
131 umírá,  
zůstává 959

Image source: Y. Shibata & S. Takagi

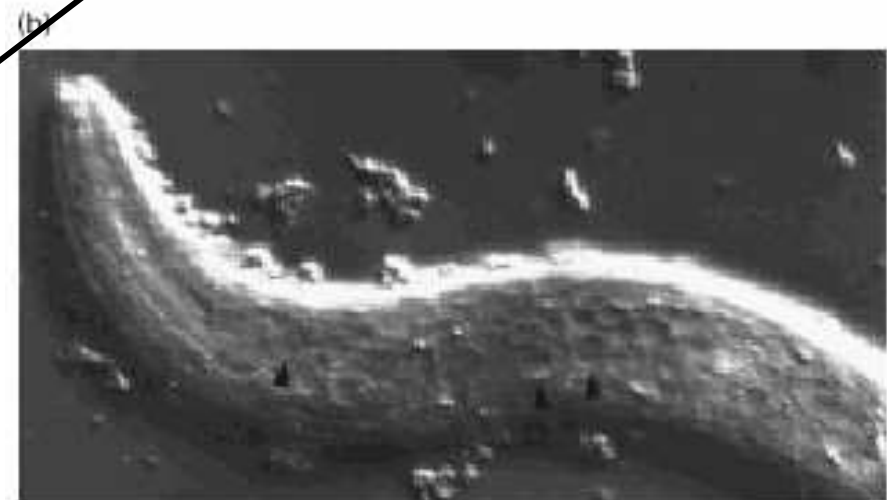
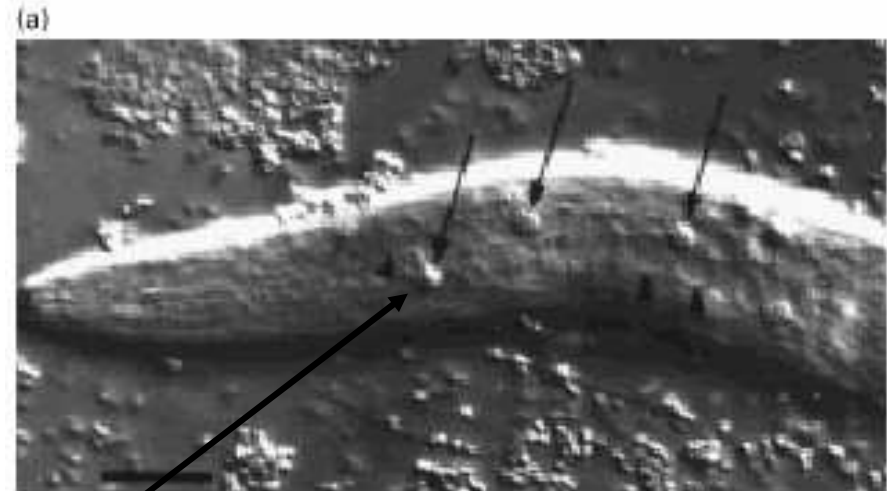


# Hunting Down Genes Involved in Cell Death

During the development of multicellular organisms, certain cells are destined to die. Scientists have directed much research toward understanding this process of programmed cell death. Some sought to understand why a cell would be destined to die during development, whereas others asked how a cell regulates this form of death. In 1986, H. Robert Horvitz provided clues by examining the genetics of cell death using a well-characterized model system, the nematode *Caenorhabditis elegans*.

## System *Caenorhabditis elegans*

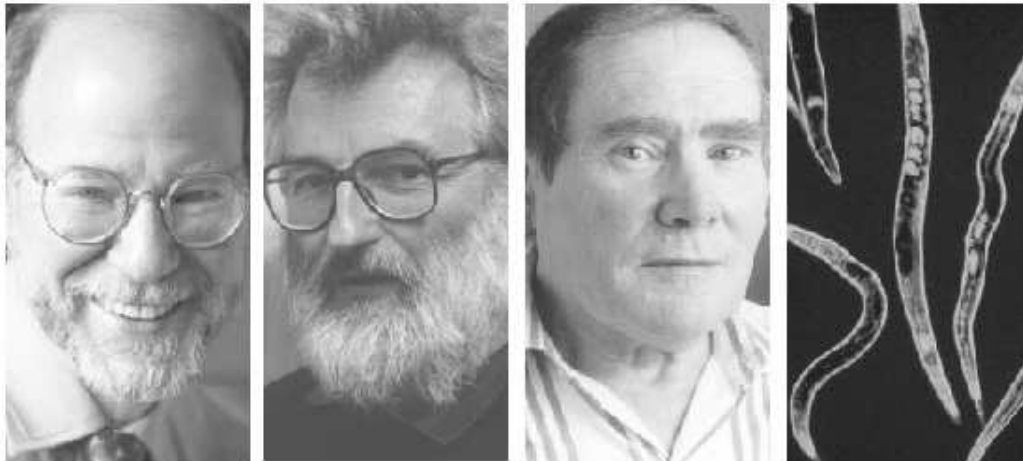
- je eliminováno přesně 131 z 1090 buněk
- buňky odumírající apoptózou jsou 2 minuty refraktilní, což umožňuje jejich sledování světelným mikroskopem
- u mutantů *ced-1* a *ced-2* je rychlé odumírání znemožněno - zůstávají pozorovatelné déle
  - *Robert Horvitz* tyto mutanty použil při hledání jiných mutantů, u kterých se tyto refraktilní buňky neobjevily (protože u nich k odumírání buněk nedocházelo) ... Tato nová mutace, *ced-3*, buňkám umožnila neomezeně přežít.



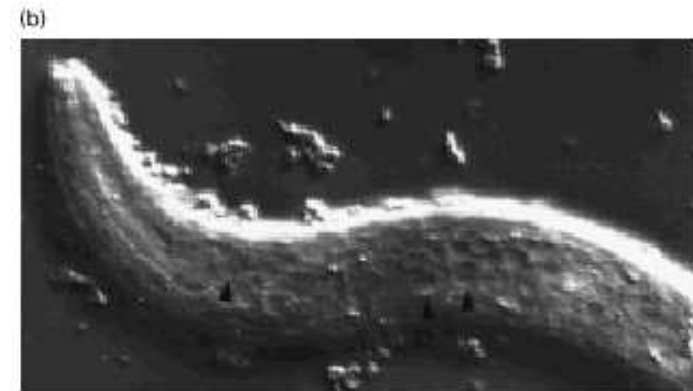
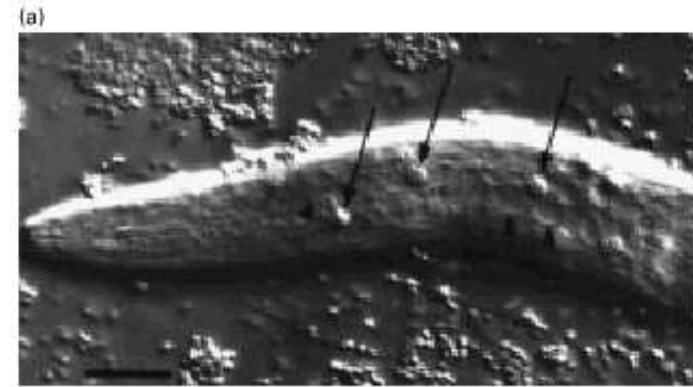
▲ FIGURE 23.1 Screening for *C. elegans* genes involved in programmed cell death were observed using Nomarski differential contrast microscopy. (a) Newly hatched larva carrying a

Mutant *ced-3* and *ced-4* umožňují přežití všem 1090 buňkám.

Robert Horvitz  
John Sulston  
Sydney Brenner



Developing a theme: (from left) Robert Horvitz, John Sulston and Sydney Brenner have won the 2002 physiology Nobel for their work on the biology of the nematode *Caenorhabditis elegans*.

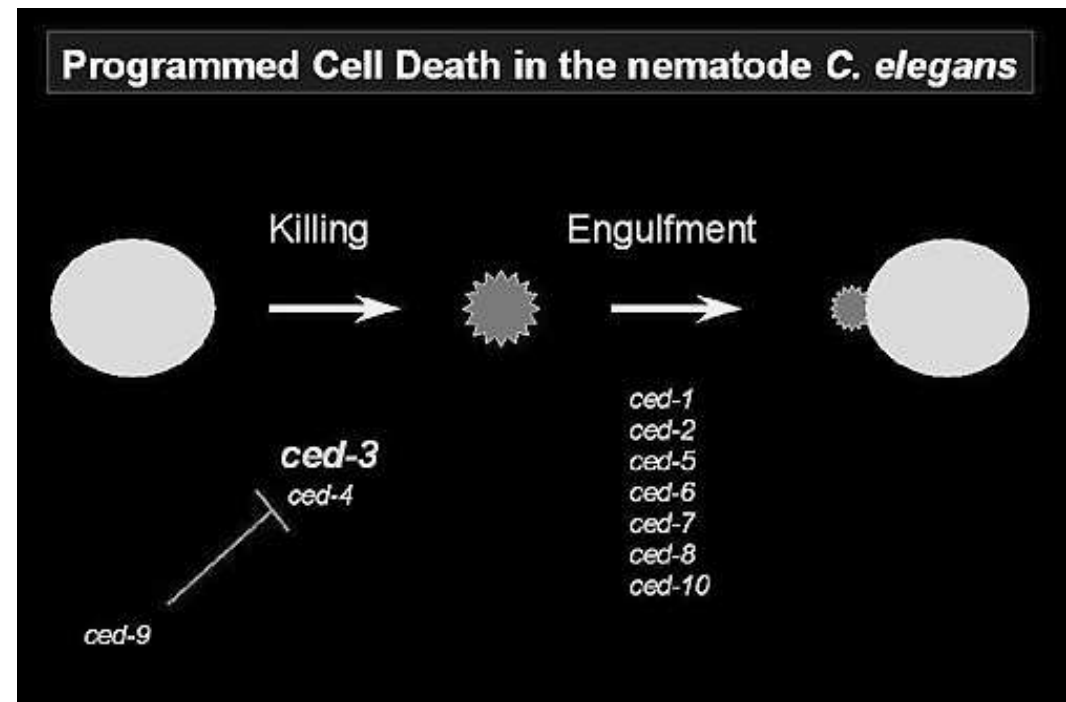


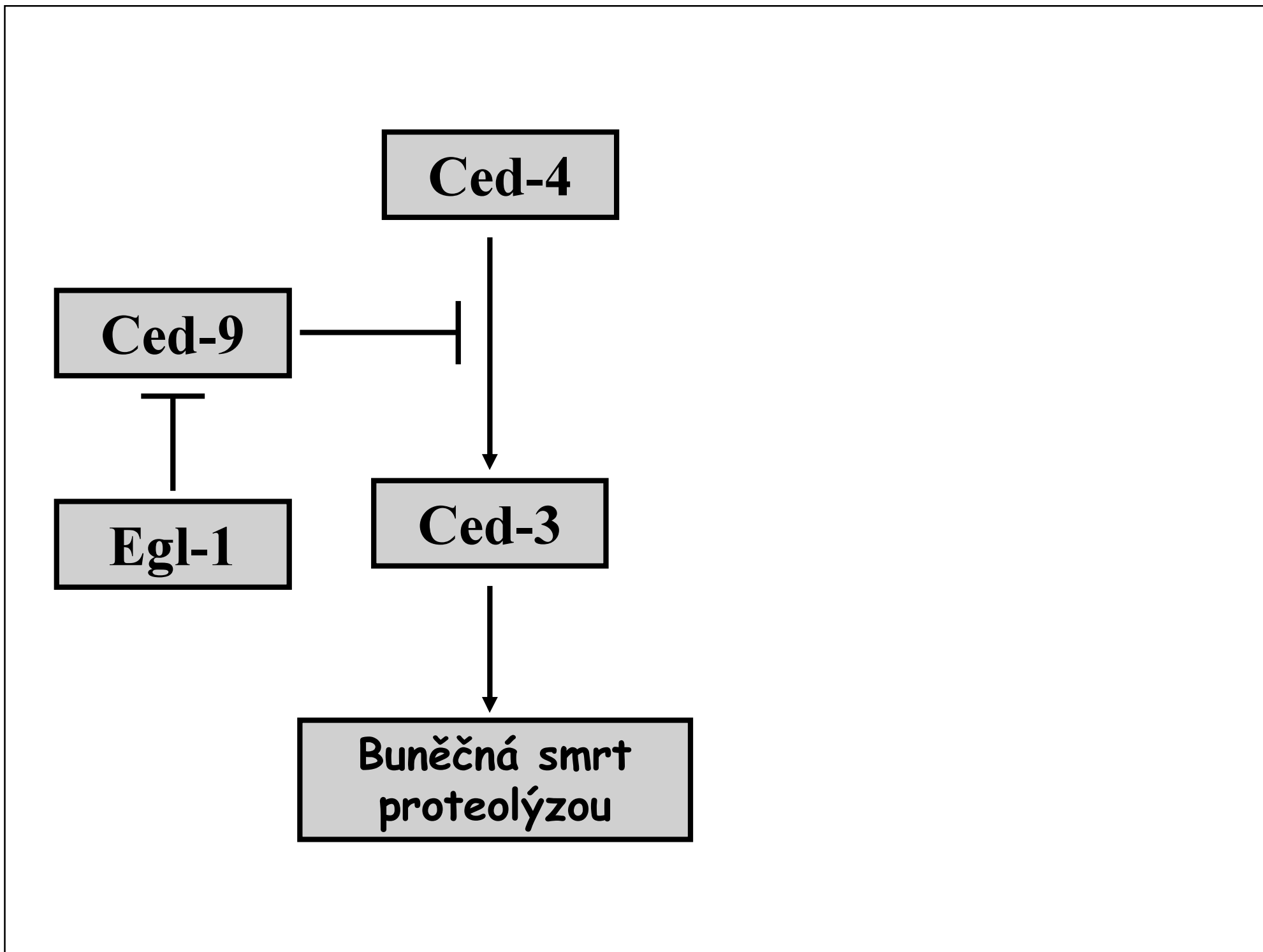
▲ FIGURE 23.1 Screening for *C. elegans* genes involved in programmed cell death were observed using Nomarski differential contrast microscopy. (a) Newly hatched larva carrying a

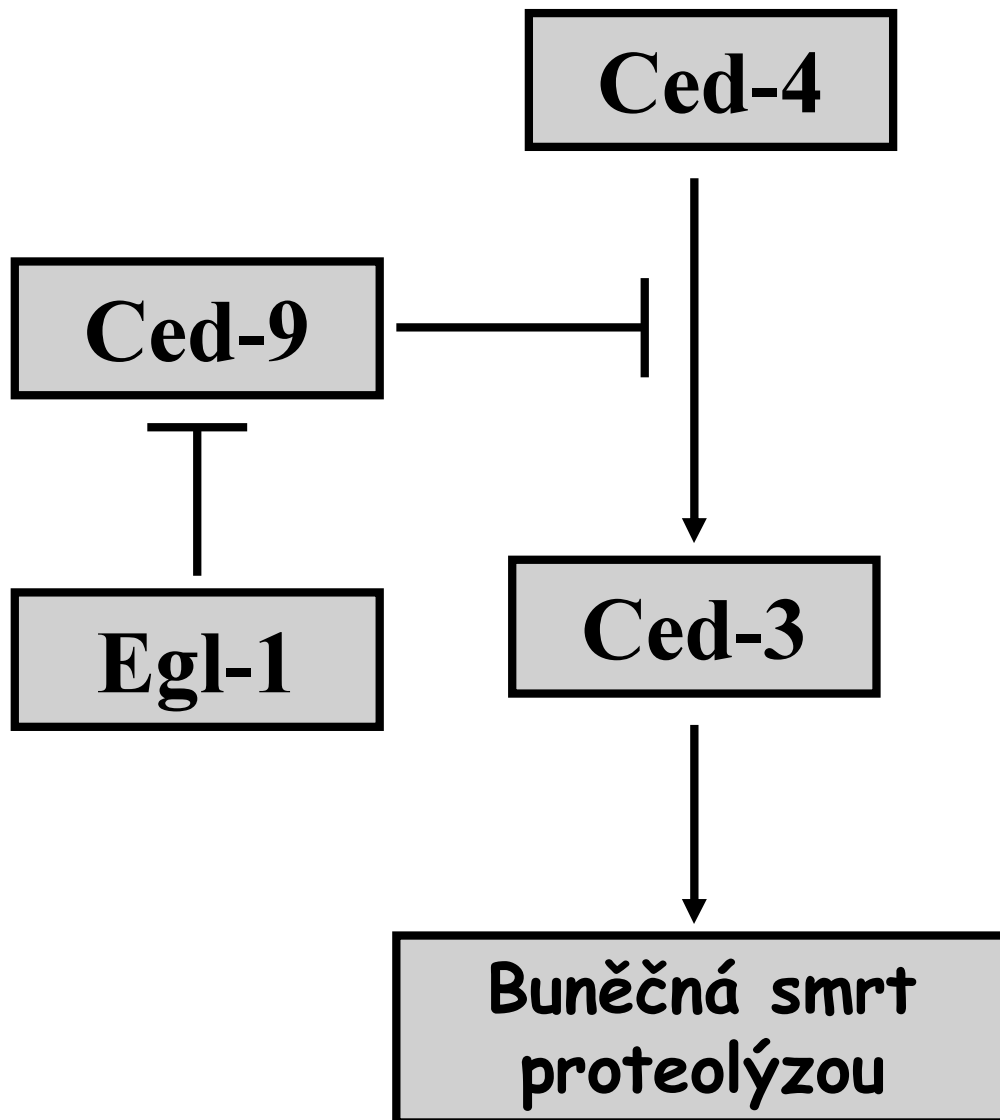
Nobelova cena  
2002

# Ced u *C. elegans*

- geny *ced* ("cell death defective genes")
- mutace genů *ced* ovlivňují osud 131 buněk, které by normálně měly zemřít
- hlavní kategorie genů *ced*:
  - geny s regulační funkcí (*ced 3*, *ced 9*, *ced 4*)
  - geny efektorové (výkonná funkce) (ostatní *ceds*)







Překvapení: onkogen, podporující přežívání buněk byl izolován z lidských lymfomů: *bcl-2*

*Bcl-2* a *Ced-9* jsou homologní: buňky *C. elegans* transfekované *bcl-2* mohou kompenzovat důsledek mutace *ced-9*, tj. přílišné odumírání buněk. Oba proteiny mají transmembránové domény, které se zanořují do vnější membrány mitochondrií, jádra a ER.

## System *C. elegans* - závěry:

- proteiny Ced-3 a Ced-4 jsou nutné pro buněčnou smrt. (Pokud je kterýkoliv z nich inaktivován, všech 1090 buněk přežívá).
- protein Ced-9 funguje jako negativní regulátor apoptózy. (Pokud je inaktivován, všechny buňky vyvíjejícího se organismu umírají).
- Anti-apoptotický faktor Ced-9 může být inaktivován vazbou Egl-1
- Ced-3 je účinná proteáza- kaspáza.



Protein Ced-3 je cysteinová proteáza homologní k interleukin-1 $\beta$ -konvertujícímu enzymu (ICE), tj. proteinu, který se uplatňuje při zánětech. V lidských buňkách existuje alespoň 13 podobných proteinů...nazývají se kaspázy.

# Kaspázy

- **cysteinyl aspartát-specifické proteázy** (enzymy bohaté na cystein, které štěpí mnohé proteiny v místech, kde jsou lokalizovány zbytky Asp)
- syntetizovány jako dormantní inaktivní proenzymy (prokaspázy)
- po proteolytické aktivaci degradují klíčové buněčné struktury, což vede k typickým morfologickým a biochemickým znakům apoptózy
- mohou se uplatnit jako iniciátory i efektory
- dosud známo 13 členů rodiny kaspáz, které se dělí do dvou podskupin



# Kaspázy - skupina 1

- kaspáza 8, kaspáza 9 a kaspáza 10
- obsahují velkou pro-doménu na N-konci
- fungují jako iniciátory procesů buněčné smrti

## Kaspázy - skupina 2

- kaspáza 3, kaspáza 6 a kaspáza 7
- obsahují malou pro-doménu
- štěpí různé substráty, které přímo způsobují řadu morfologických a biochemických změn v buňkách podléhajícím apoptóze

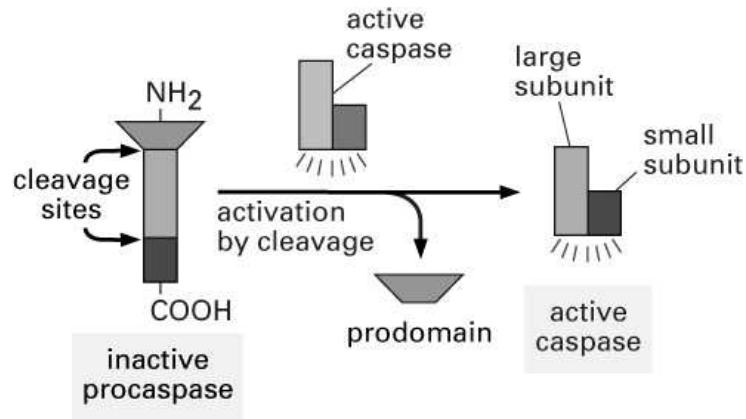
# Efektory kaspáz

- další kaspázy
- PARP
- lamin
- aktin
- DNA

## Účinky kaspázy 3

- efektor apoptotické signalizace
- štěpí různé buněčné proteiny
- aktivuje specifickou DNázu („CAD - caspase-activated DNase“)
- v proliferujících buňkách je CAD obvykle v komplexu se svým inhibítozem ICAD
- kaspáza 3 v apoptotických buňkách štěpí ICAD a umožňuje tak CAD fragmentovat DNA

(A) procaspase activation



**Jedna kaspáza může aktivovat jinou**



Figure 17-38 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

**. . . což vede ke spuštění kaskády kaspázových reakcí:**

(B) caspase cascade

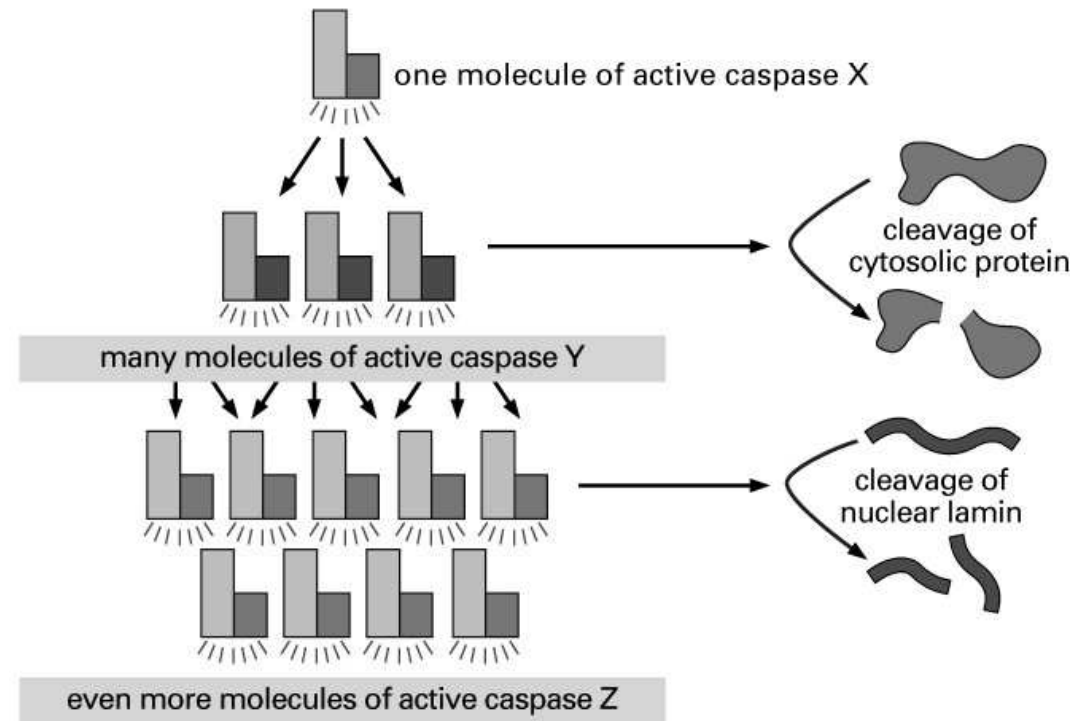
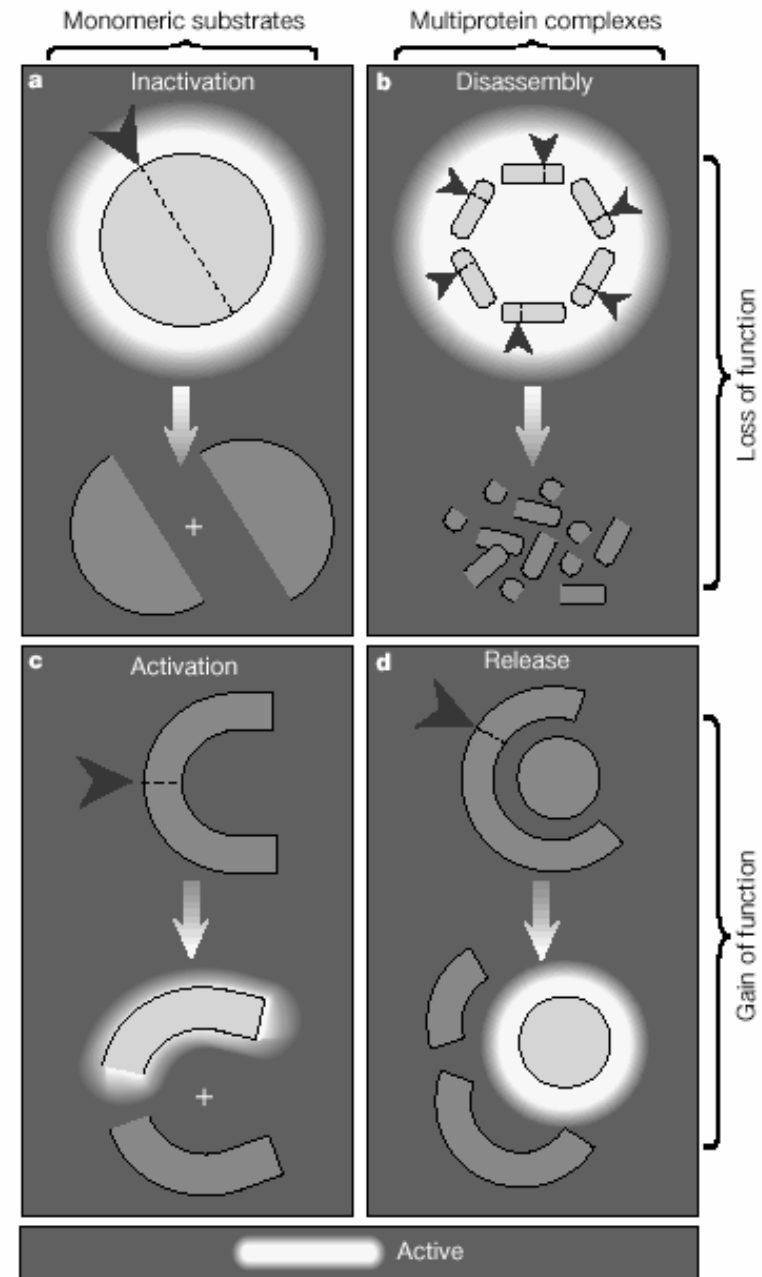


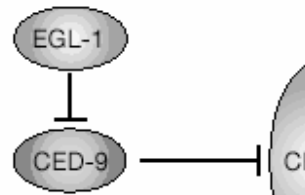
Figure 17-38 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# Proteolytický účinek kaspáz je velmi specifický

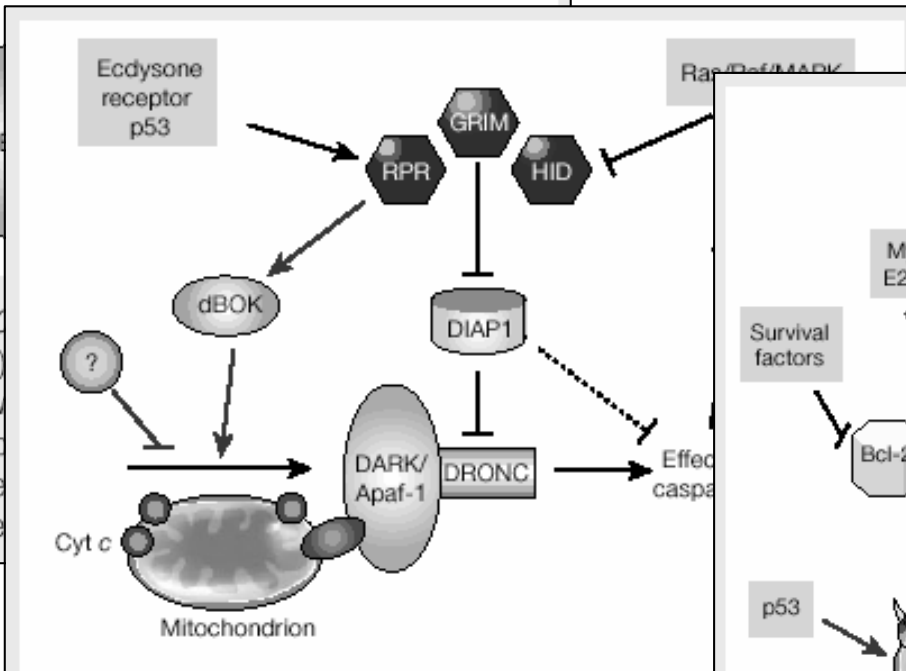
Proteolytic cleavage by caspases can lead to diverse results, depending on the nature of the substrate and the exact position of the cleavage site in the primary sequence. The simplest, and probably most frequent outcome is loss of biological activity (panels **a**, **b** in the figure below). Caspase substrates range from single polypeptide chain enzymes (for example, polyADP-ribose polymerase) to complex macromolecular structures (for example, the lamin network). Limited proteolysis by caspases can also result in a gain of biological activity (**c**, **d**). In some cases (for example, Bcl-2 or Bcl-x<sub>L</sub>), the cleaved products antagonize the full-length protein (dominant-negative forms). In other cases, removal of inhibitory domains or subunits results in increased biological activity (for example, PAK2, Bid and CAD/ICAD).

**Hengartner (2000) The Biochemistry of Apoptosis. Nature 407: 770.**

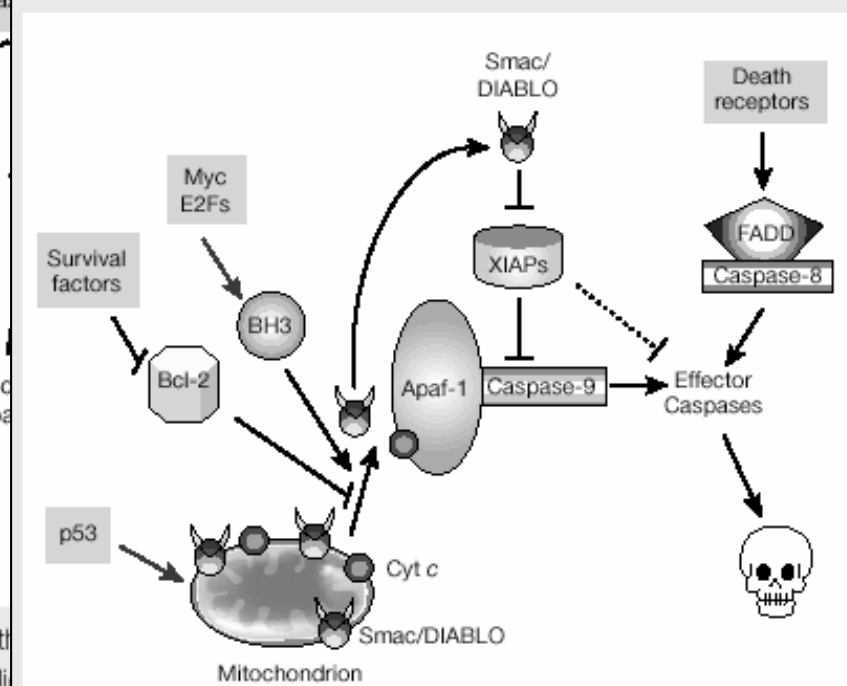




**Figure 1** The apoptotic system in *C. elegans* (Fig. 1) and mammals (Fig. 3). Components of the apoptotic pathway from *C. elegans* to mammals is apparent (by sequence or functionally) between *C. elegans* and mammals. Prototypic molecules are used to represent families of proteins.



**Figure 2** The apoptotic system in *D. melanogaster*. Compare with the apoptotic system in *C. elegans* (Fig. 1) and mammals (Fig. 3). Red arrows indicate possible interactions between components of the apoptotic pathway.



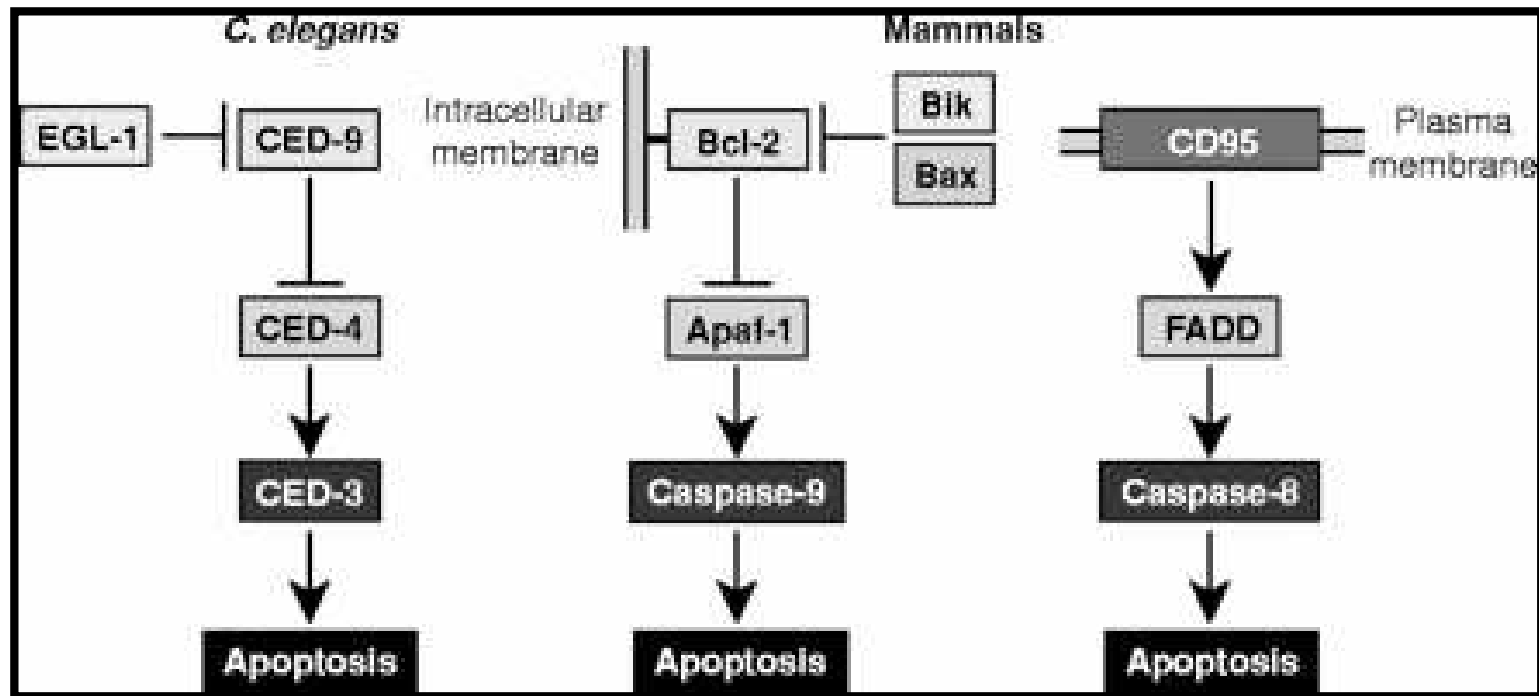
**Figure 3** The apoptotic system in mammals. Compare with the apoptotic system in *C. elegans* (Fig. 1) and *D. melanogaster* (Fig. 2). Red arrows indicate possible interactions between components of the apoptotic pathway. Prototypic molecules are used to represent families of proteins; for example, BH3 and Bcl-2 represent pro- and anti-apoptotic members of the Bcl-2 family, respectively.

# Apoptosis in development

Pascal Meier<sup>\*,‡</sup>, Andrew Finch<sup>†</sup> & Gerard Evan<sup>†</sup>

**Nature 407: 796 (2000)**

## Dráhy buněčné smrti u *C. elegans* a savců

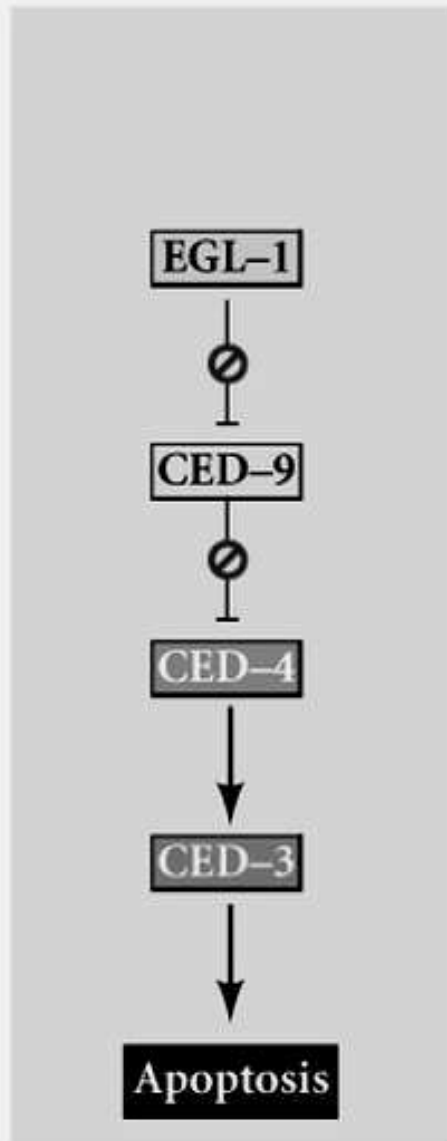


Proteiny Ced-9/BCL-2 integrují pozitivní a negativní signály a rozhodují o tom, zda apoptóza nastane nebo ne. Aktivace CED-4/Apaf-1 předurčuje buňku k apoptóze a za vlastní smrt zodpovídají kaspázy CED-3/kaspáza 9. U savčích buněk BCL-2 odpovídá na různé cytotoxické stimuly (např. nedostatek cytokinů nebo přítomnost glykokortikoidů, poškození DNA nebo staurosporin). Ale signál z receptoru smrti CD95 přechází obvykle přes adaptér FADD, který přímo aktivuje kaspázu-8 a obchází proteiny rodiny BCL-2.

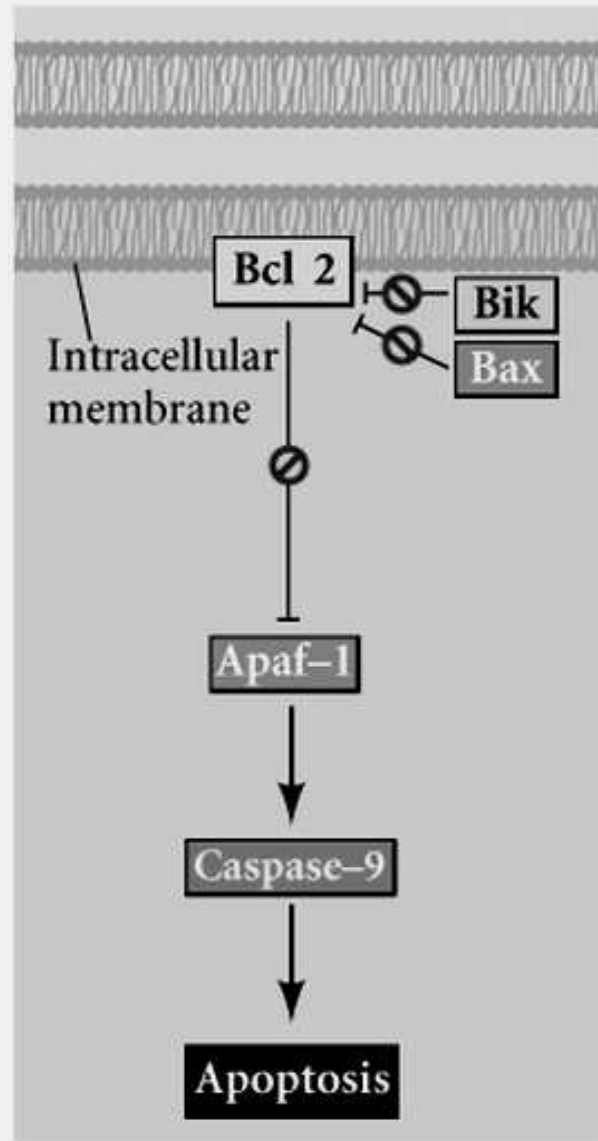
Adams and Cory, *Science* 281: 1322 [98]



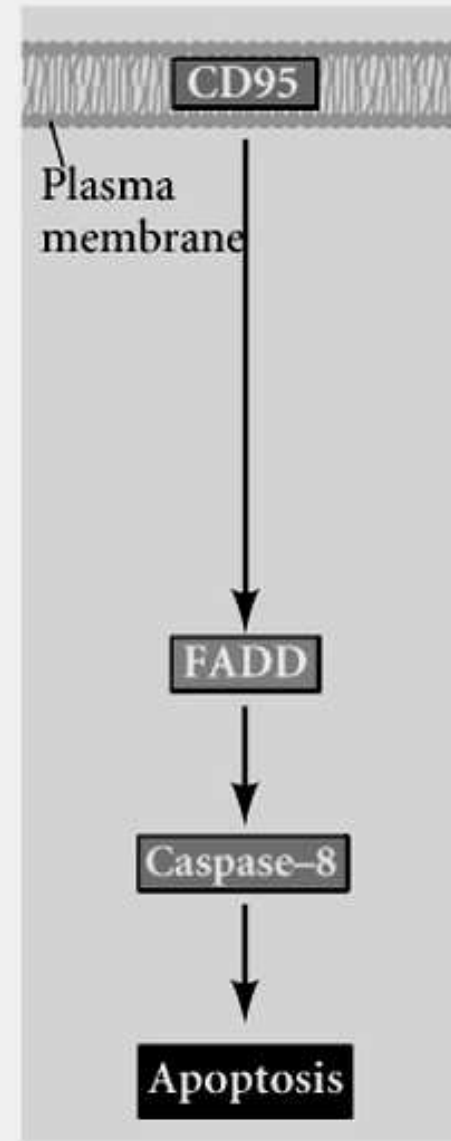
(A) *C. elegans*



(B) Mammalian neurons



(C) Mammalian lymphocytes



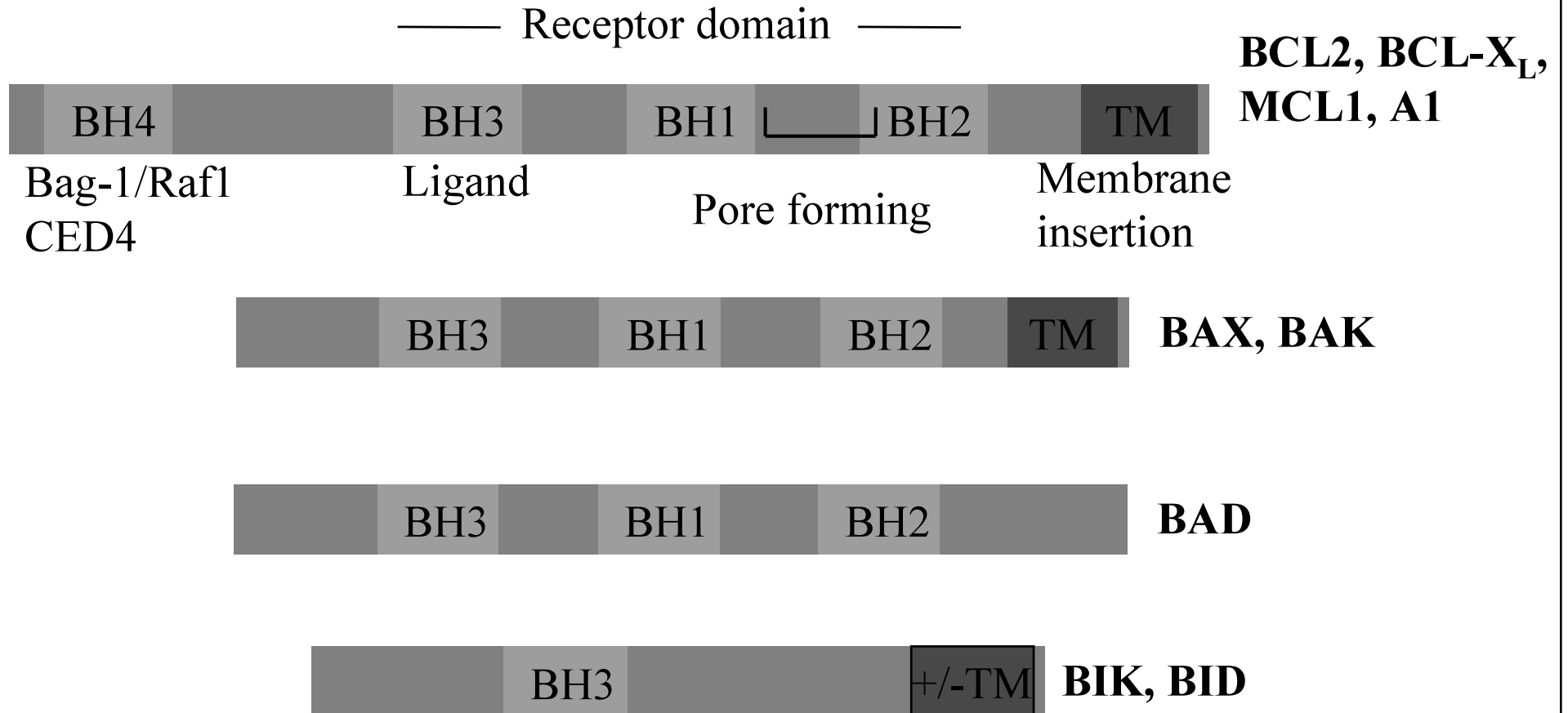
# Regulátory apoptózy - Apaf-1

- „apoptotic protease activating factor“
- spolu s **cytochromem c** a za přítomnosti **ATP** zodpovídá za zpracování a dozrávání pro-kaspázy 9

# Regulátory apoptózy - rodina BCL-2

- skupina proteinů s pro- nebo anti-apoptotickou funkcí
- rovnováha opačně působících faktorů rozhoduje o osudu buňky při reakci na stres nebo poškození DNA
- evoluční konzervativnost
- pro-apoptotické členy rodiny BCL-2 zvyšují nitrobuňčnou hladinu cytochromu c
- spojeny s membránami, především mitochondriálními
- 18 členů, strukturní příbuznost (obsahují alespoň 1 ze čtyř známých šroubovicových domén BH (BCL-homology, BH1-BH4))
- domény BH umožňují tvorbu homodimerů / heterodimerů a vzájemnou regulaci
- pro-apoptotické proteiny BAX, BAD, BID, BIK a BIM obsahují šroubovicovou doménu smrti („death domain“), která zapadá do hydrofóbní kapsy ve struktuře anti-apoptotických proteinů BCL-2 a BCL-X<sub>L</sub>.

# Rodina proteinů BCL-2



# Rodina proteinů BCL-2

Molekuly navozující smrt  
(pro-death, PD)

Skupina II    BAX  
                  BAK

Skupina III    BAD  
                  BCL-X<sub>S</sub>  
                  BIK

Molekuly stimulující přežívání  
(pro-survival, PS)

Skupina I    BCL-2  
                  BCL-X<sub>L</sub>  
                  MCL-1  
                  A1  
                  BCL-W

# Rodina BCL-2

- proteiny skupiny I a II mohou vzájemně tvořit homodimery nebo heterodimery; proteiny skupiny III dimerizují pouze se zástupci skupiny I
- BCL2, BCL-X<sub>L</sub> (skupina I) stabilizují mitochondriální membránu, inhibují uvolňování cytochromu c a inhibují signály smrti; proteiny typu BAX (skupina II) antagonizují proteiny skupiny I a stimulují apoptózu
- domény BH představují vazebná místa ("docking" sites) pro regulátory apoptózy v proteinech BCL2

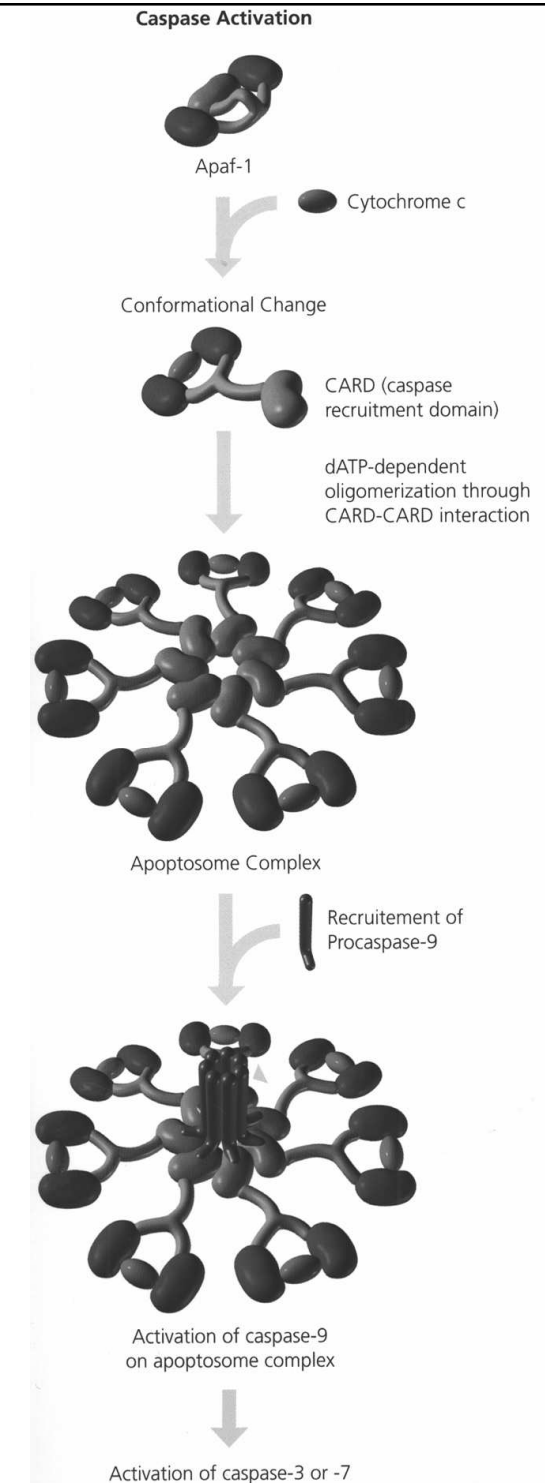
# Souvislost BCL-2 - cytochrom c

- proteiny BCL-2 fungují tak, že řídí uvolňování cytochromu c
- indukovaná exprese anti-apoptotických členů BCL2 brání uvolnění cytochromu c z mitochondrií, aktivaci kaspáz a smrti buněk vystavených cytotoxickým látkám
- indukovaná exprese pro-apoptotických členů BCL2 (BAX) způsobuje uvolnění cytochromu c z mitochondrií a smrt buňky i za nepřítomnosti jakéhokoliv cytotoxického signálu

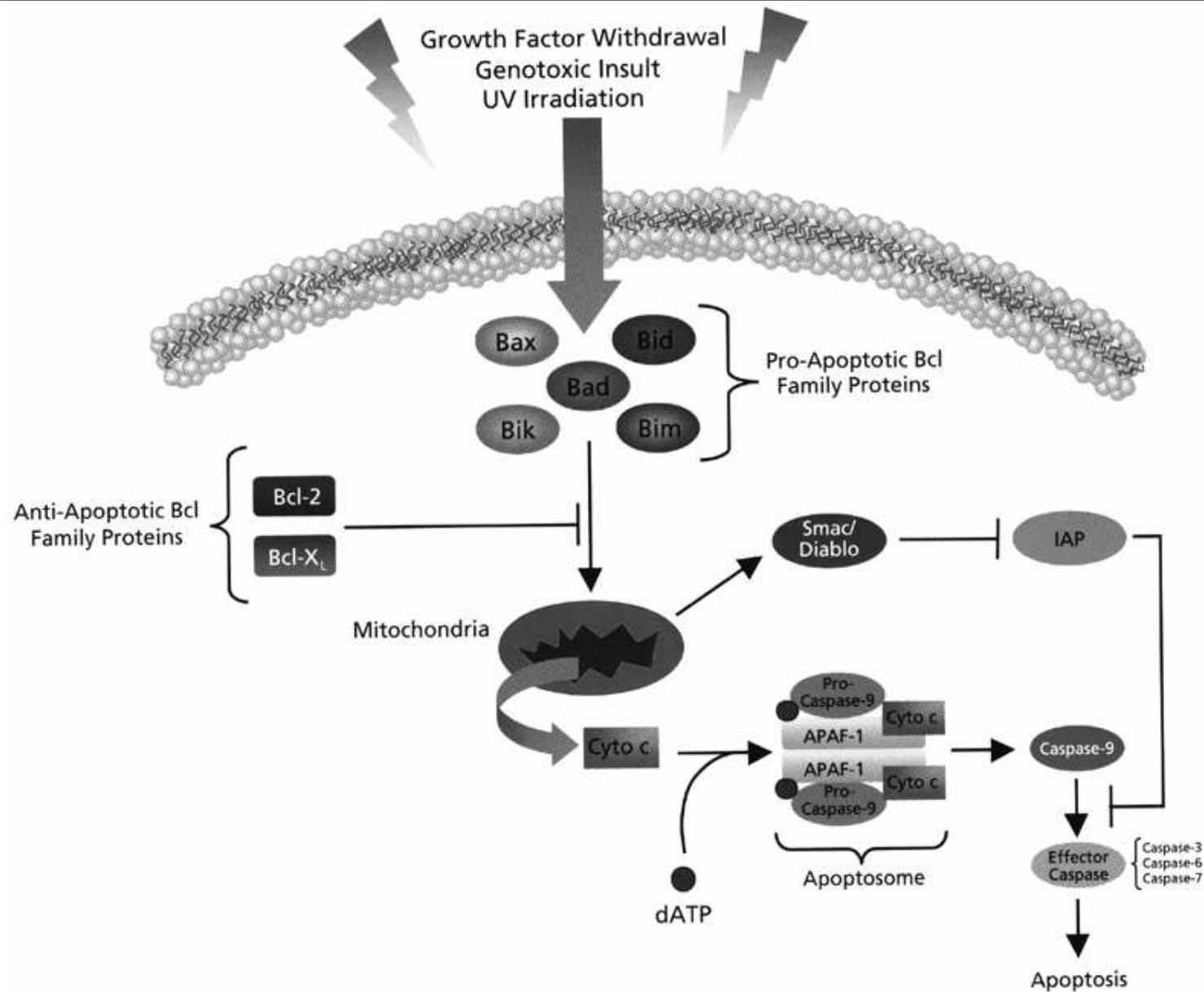
pro-apoptotické proteiny BCL-2 působí na povrchu mitochondriální membrány a fungují tak, že snižují její potenciál a stimulují tak uvolnění cytochromu c.

# Cytochrom c

- spolu s Apaf-1 a dATP **nutný** faktor pro aktivaci kaspáz
- jakmile se cytochrom c objeví v cytozolu (řízeno Bcl-2), váže se na **Apaf-1** (homolog Ced-4)
- Apaf mění konformaci a oligomerizuje
- za přítomnosti dATP komplex cytochrom c/Apaf-1 váže a aktivuje **prokaspázu 9** („apoptozom“)
- aktivovaná kaspáza 9 aktivuje další kaspázy zodpovídající za apoptotickou smrt buňky (kaspázy 3 nebo 7)



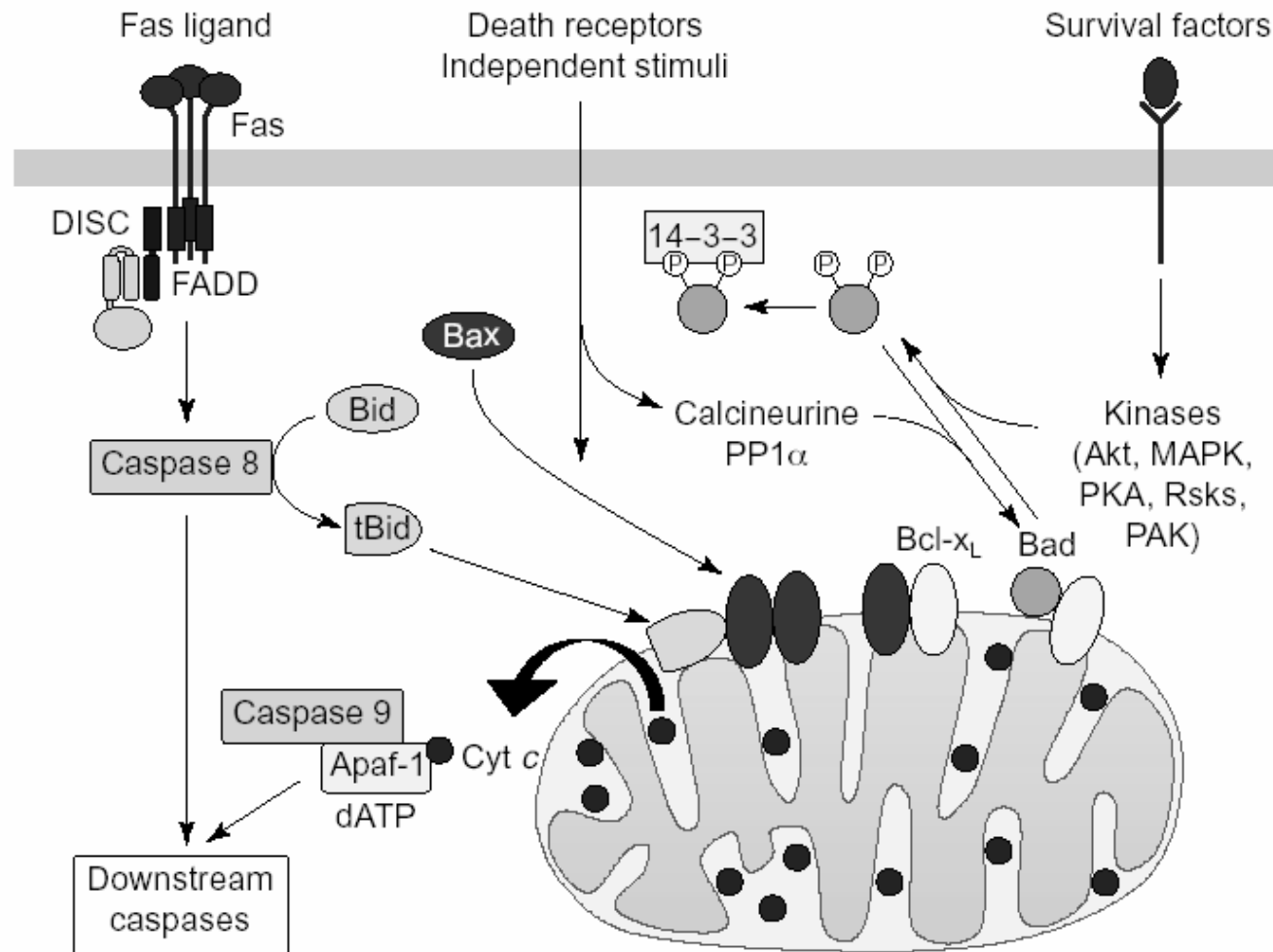




Proteiny Smac/Diablo jsou uvolňovány z mitochondrií, aby blokovaly proteiny IAP, které jsou schopny interakce s kaspázou 9 a její inhibice.

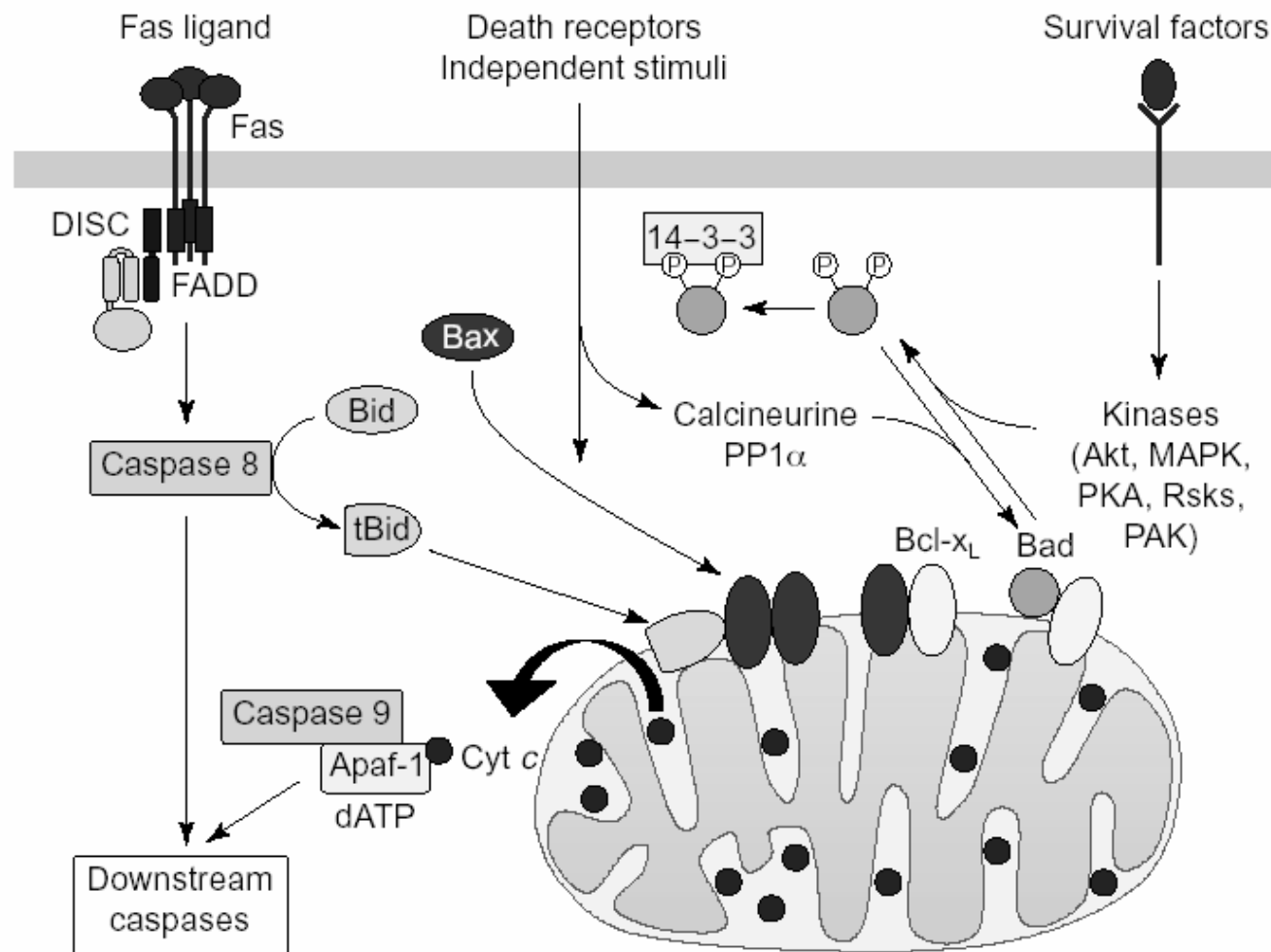
# Faktory řídící aktivitu BCL-2

- cytozolické proteiny
- během apoptózy translokují do mitochondrií
- vážou a ovlivňují aktivitu BCL2 nebo přímo řídí uvolňování cytochromu c



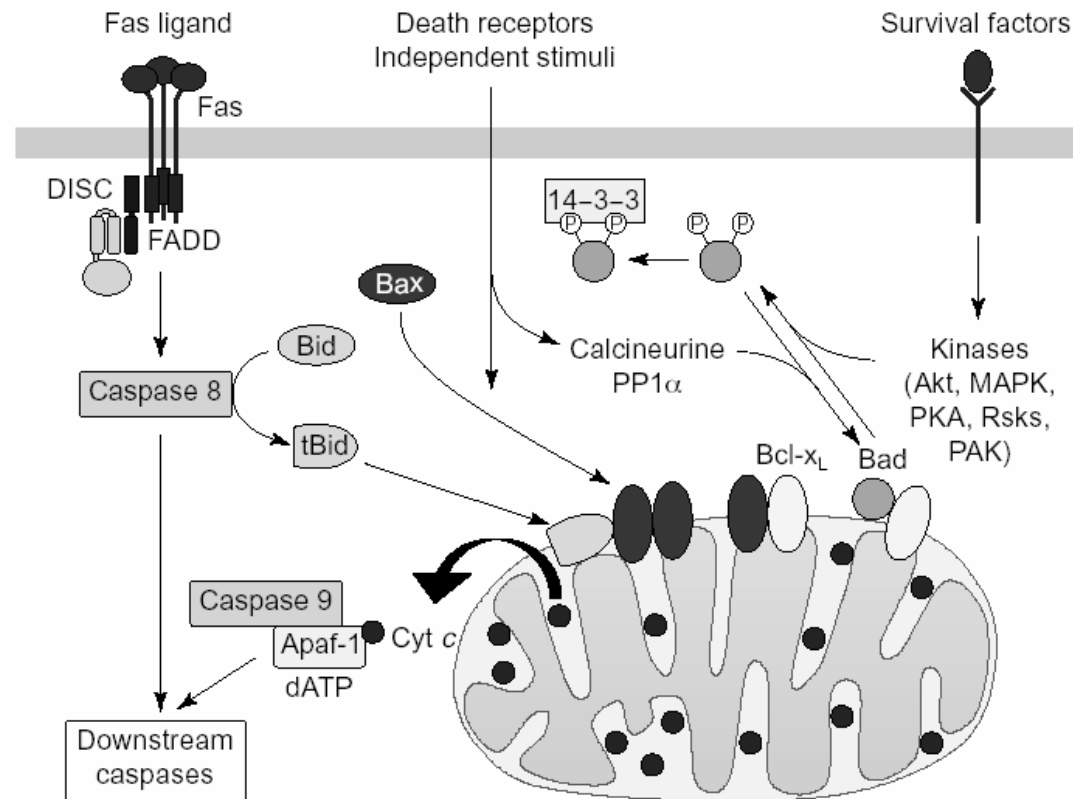
# Bid

- pro-apoptotický protein, štěpen kaspázou 8
- C-koncový fragment tBid přechází do mitochondrií, kde aktivuje pro-apoptotický Bax: uvolnění cytochromu c



# Bad

- za přítomnosti růstových faktorů se Bad fosforyluje kinázami Akt, MAPK, PKA, MAPKK (Rsk) nebo p21-activated kinase 1 (PAK)
- fosforylovaný Bad váže 14-3-3, který zajistí jeho lokalizaci v cytosolu (apoptóza nenastává)
- při nedostatku růstových faktorů je Bad defosforylován  $\text{Ca}^{2+}$ -senzitivní fosfatázou (kalcineurin) nebo protein fosfatázou 1  $\alpha$ , přechází do mitochondrií, kde váže BCL- $X_L$
- Bad vytěšňuje BCL- $X_L$  z heterodimerů Bax-BCL- $X_L$ : vznikají homodimery Bax, které zajistí uvolnění cytochromu c: apoptóza

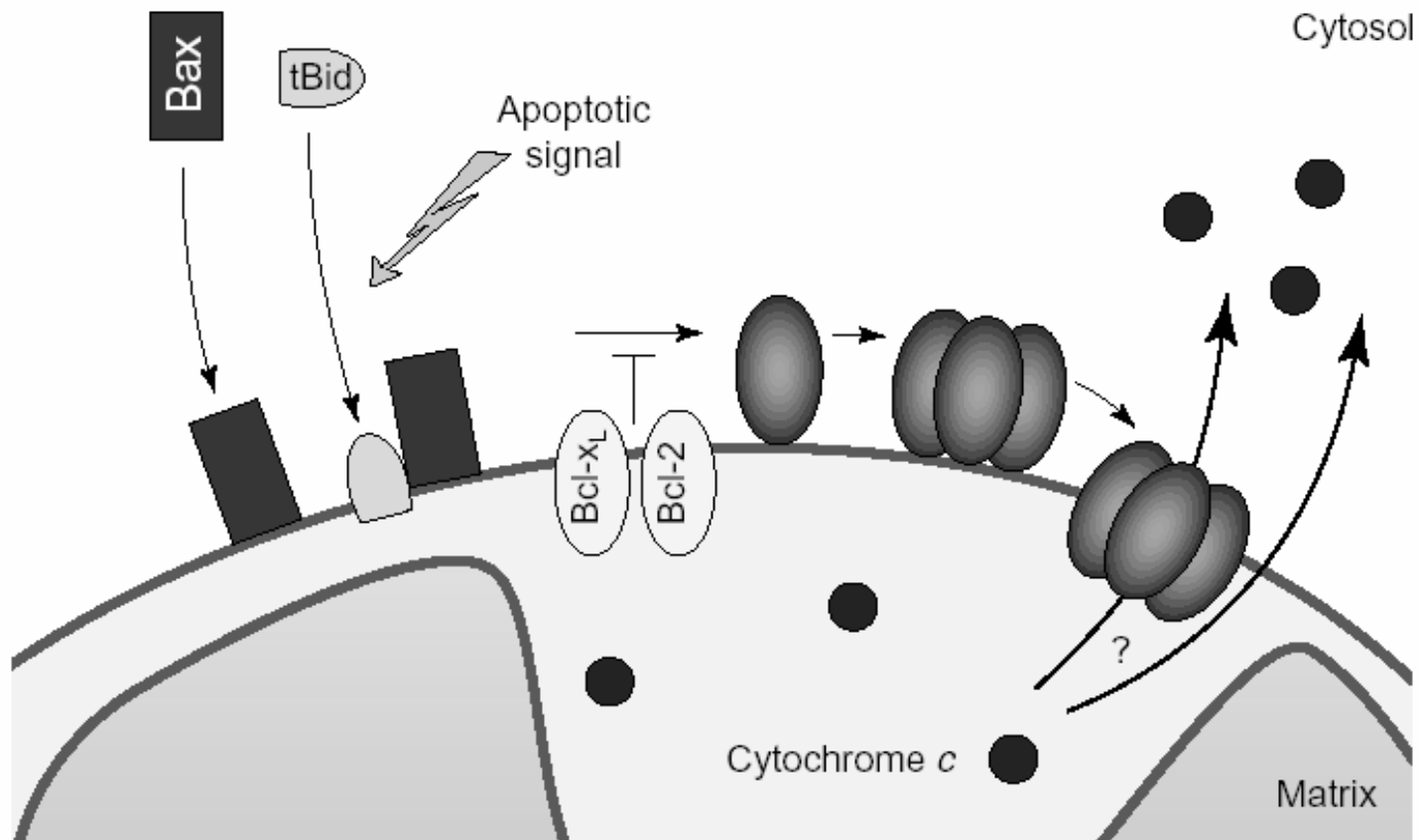


## Apoptóza vyvolaná nedostatkem růstových faktorů

- klíčová úloha pro-apoptického proteinu **Bad**
- za přítomnosti růstových faktorů je Bad prostřednictvím příslušných receptorů a kináz udržován ve fosforylované formě
- fosforylovaný Bad je vychytáván adaptorovou molekulou **14-3-3**
- absence růstových faktorů způsobí přítomnost nefosforylované formy Bad, který se uvolňuje z 14-3-3, přechází do mitochondrií a způsobí uvolnění cytochromu c - a aktivaci kaspáz **9 a 3**

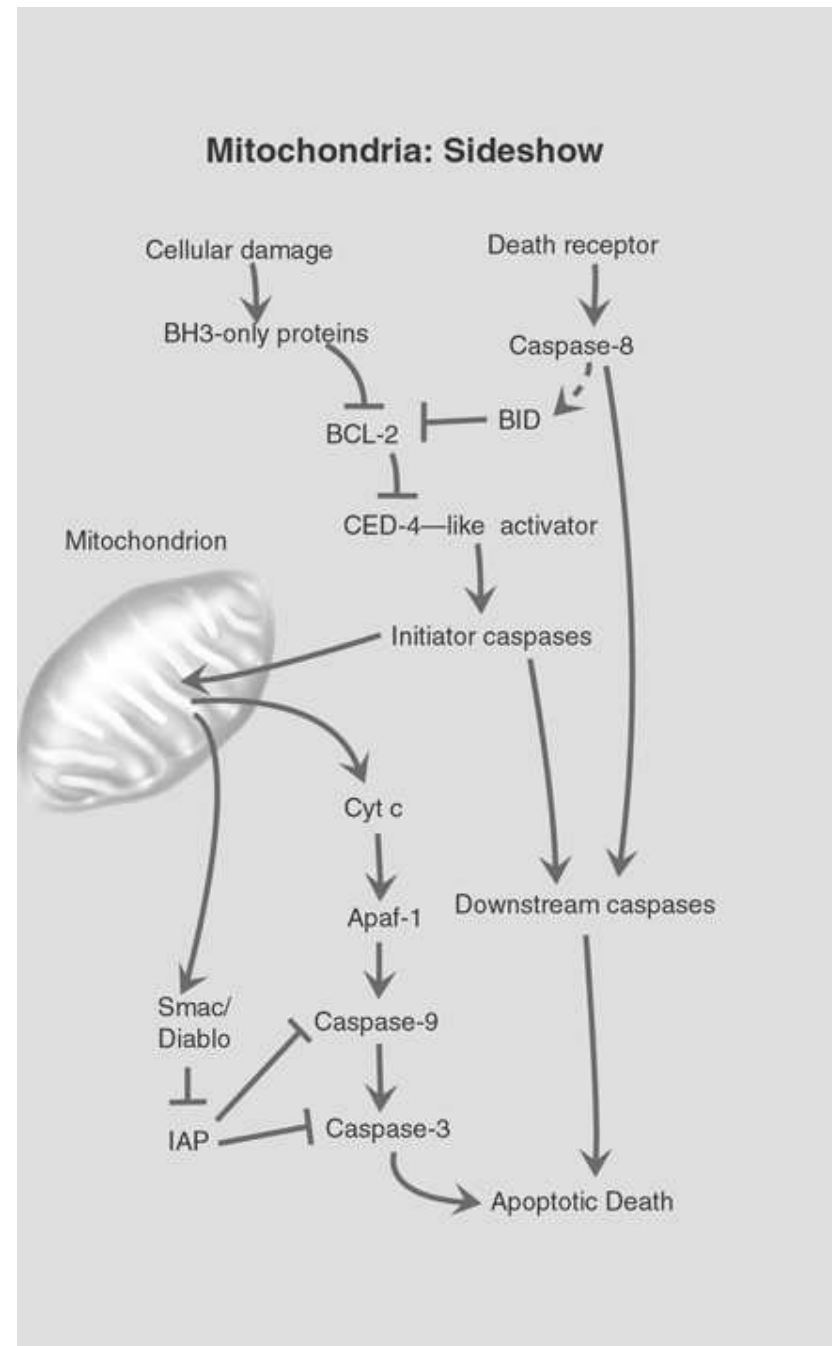
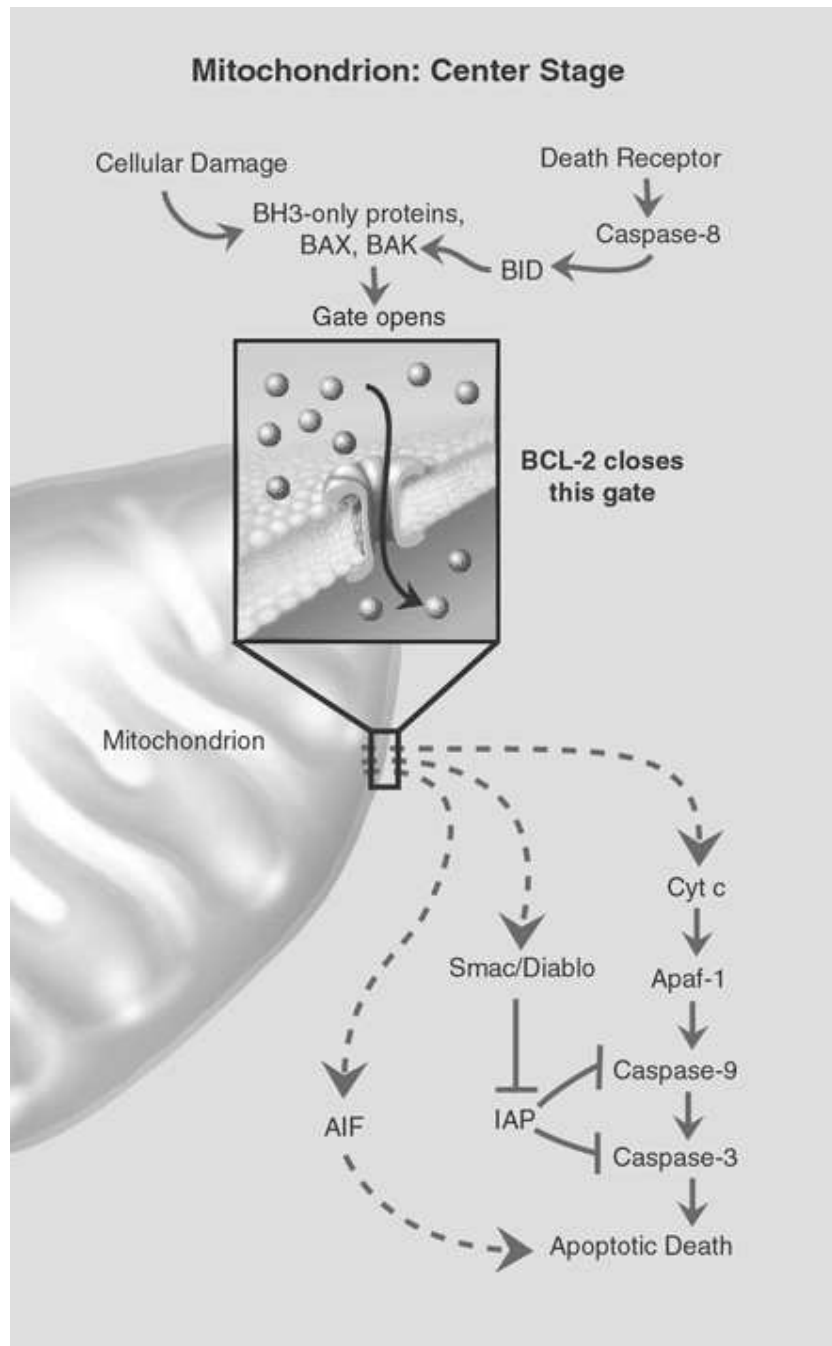
# Bax

- přijetí signálu smrti: pro-apoptotický Bax přechází z cytozolu do mitochondrie
- změna konformace Bax: oligomerizace a začlenění do vnější mitochondriální membrány
- rychle následuje uvolnění cytochromu *c*
- tyto děje jsou podporovány Bid (tBid) a inhibovány BCL-2/BCL-X<sub>L</sub>



# Apoptóza a mitochondrie

- mitochondrie nejsou zcela intaktní během apoptózy: snižuje se jejich velikost, zvyšuje se hustota vnitřní matrix
- mitochondrie představují hlavní cílové struktury proteinů BCL-2 (koordinace procesů aktivace kaspáz s uvolňováním cytochromu c)
- členové rodiny BCL2 mohou tvořit iontové kanálky *in vitro* a regulovat průchodnost kanálků VDAC (voltage-dependent anion channels) v mitochondriích
- pro-apoptické faktory způsobují ztrátu transmembránového potenciálu ( $\Delta\psi$ ) a zvyšují tak propustnost membrány

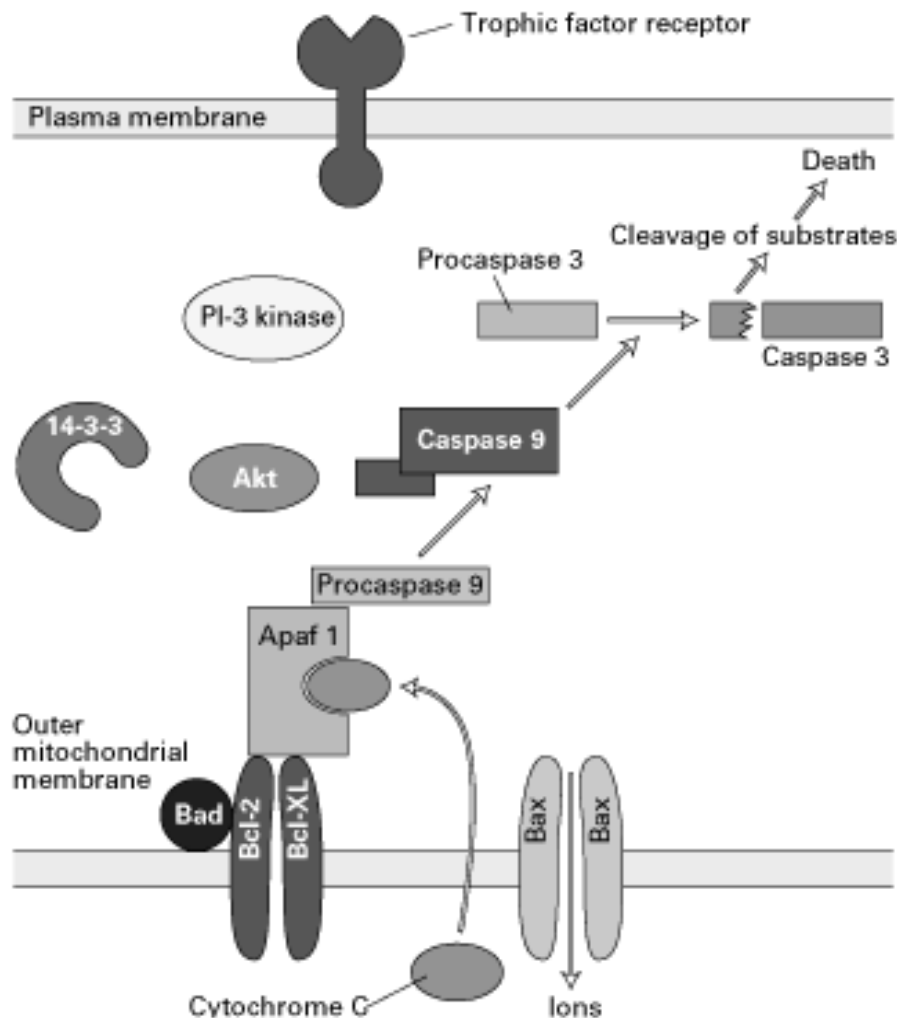


Finkel (2001) The mitochondrion: Is it Central to Apoptosis? *Science* 292: 624-626.

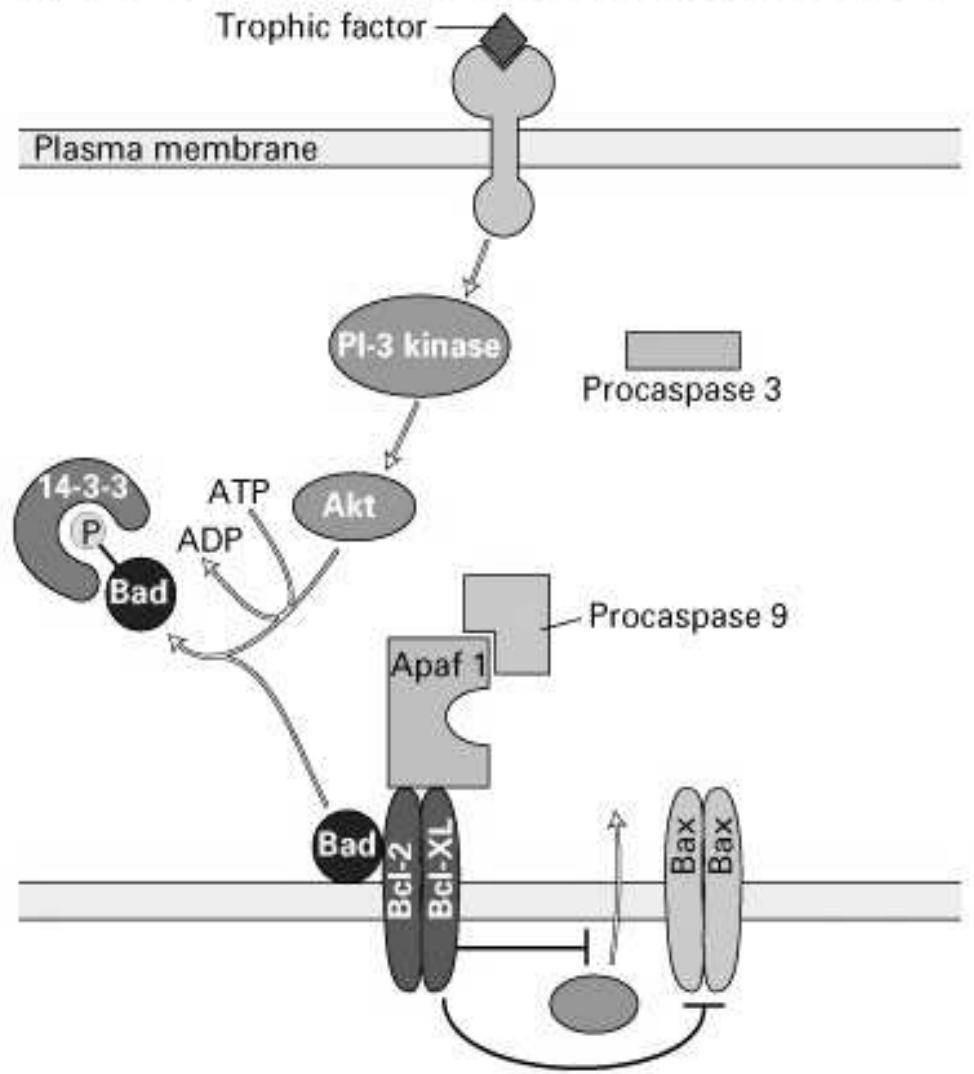


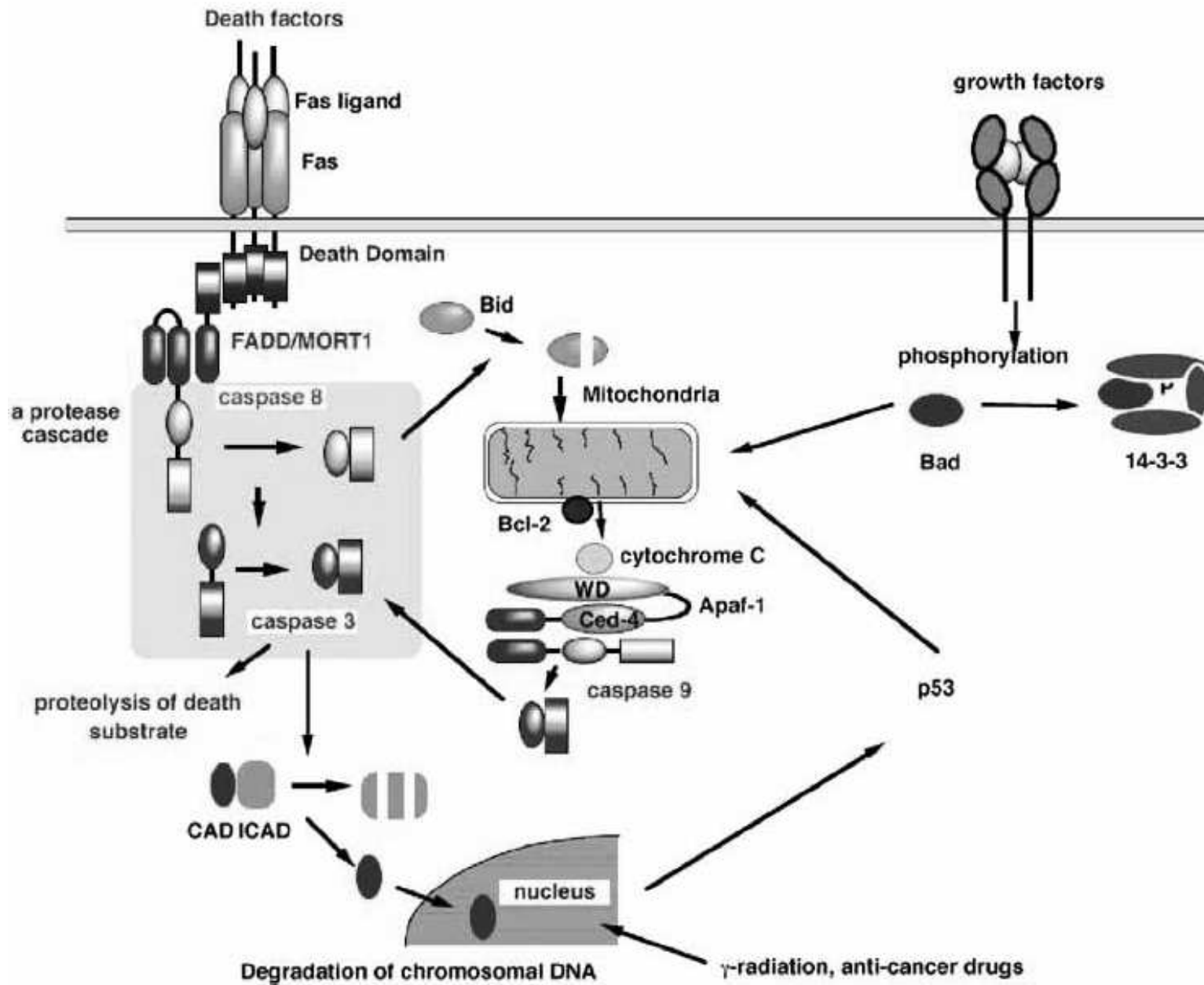
# Mitochondriální (cyt c) dráha může reagovat na přítomnost nebo nepřítomnost vnějších faktorů

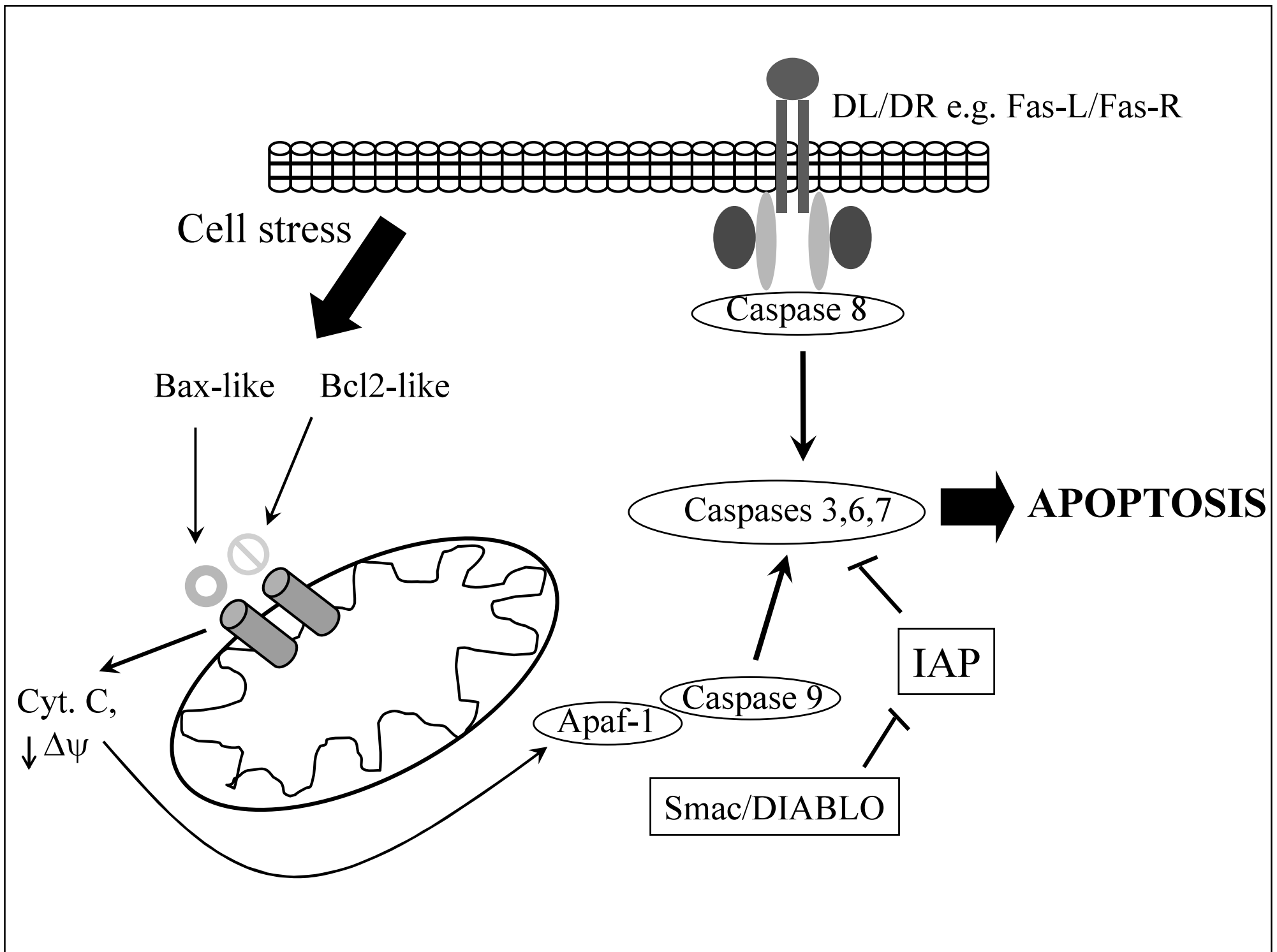
(a) Absence of trophic factor: Caspase activation



(b) Presence of trophic factor: Inhibition of caspase activation







# Mechanismus apoptózy zprostředkované ligandem Fas

- vazba faktoru smrti („Fas ligand“) k receptoru vede k tvorbě komplexu Fas, FADD, pro-kaspáza 8 („death-inducing signaling complex“)
- aktivace pro-kaspázy 8
- rozdělení signální dráhy do dvou větví
  - kaspáza 8 aktivuje kaspázu 3
  - kaspáza 8 štěpí Bid, který následně přechází do mitochondrií a stimuluje uvolnění cytochromu c.

Cytochrom c společně s Apaf-1 aktivuje kaspázu 9, která zodpovídá za zpracování pro-kaspázy 3 do podoby aktivního enzymu

# Apoptóza řízená systémem ligand/receptor

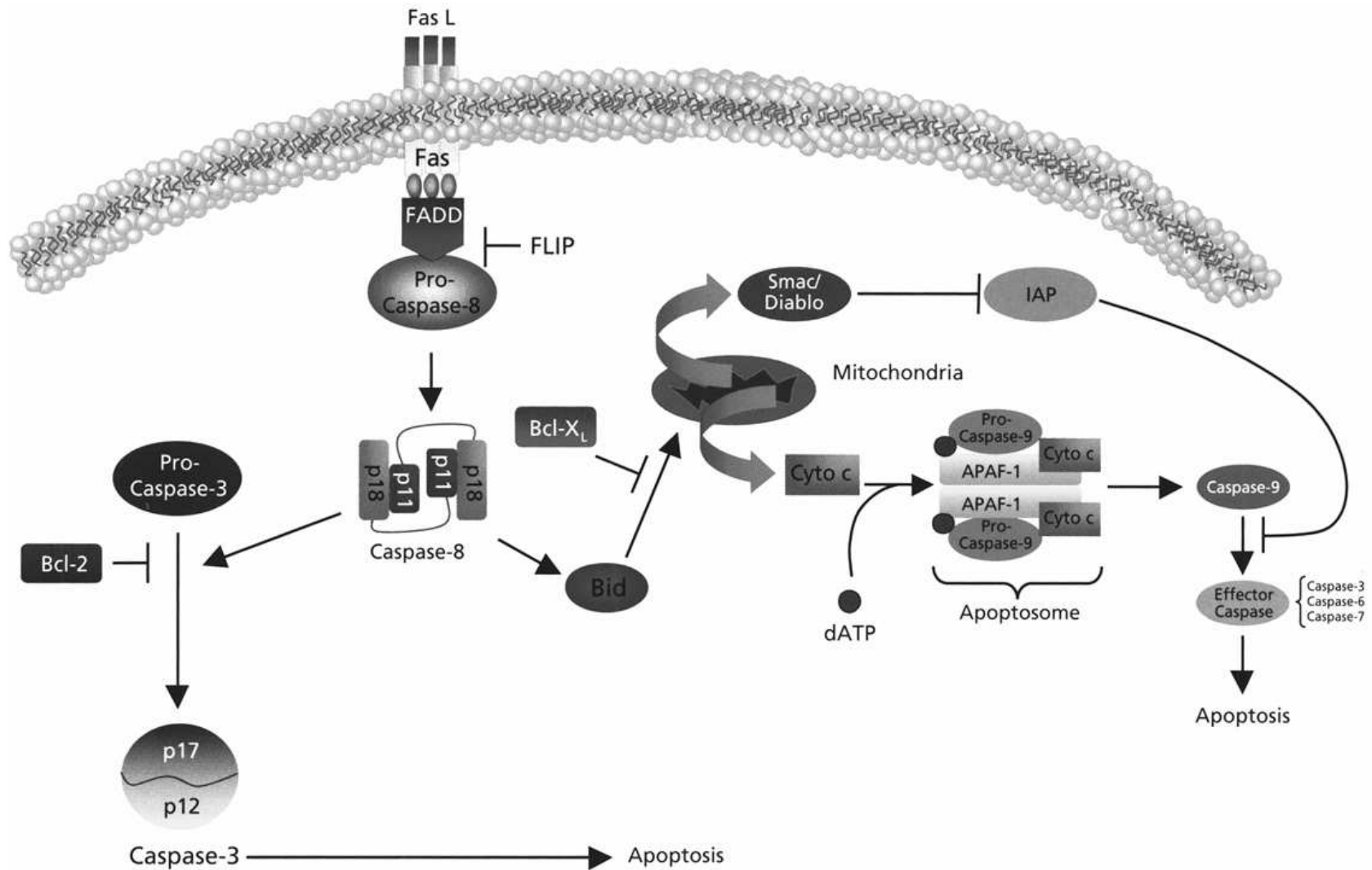
- součást signálního systému TNF: TNF/TNF-R1, FAS-L/FAS (CD95), TRAIL/DR4/DR5/DcR1/DcR2, CD40L/CD40, CD30L/CD30, atd.
- ligandem může být molekula vázaná na vnější membránu nebo molekula rozpustná
- receptory jsou transmembránové proteiny, které trimerizují a doménou smrti („death domain“) zachycují cytozolické signální proteiny (TRADD, FADD/MORT-1)
- aktivovaný receptor spolu s adaptérovými molekulami (FLASH) aktivuje prokaspázu 8 a spouští kaspázovou kaskádu

# FAS-L/FAS/Apo-1/CD95

- člen rodiny TNF
- fyziologická funkce: zapojení do regulací imunitních reakcí (kontrola specifity imunitních reakcí, účast na zánětlivých procesech)
- poruchy systému FAS-L/FAS: nedostatečná apoptóza, účast na nádorových procesech
- existuje vrozený „germline FAS mutation syndrome“: Autoimunitní lymfoproliferativní onemocnění (ALPS)

# Mechanismus účinku FAS

- vazba ligandu indukuje trimerizaci FAS v membráně cílové buňky
- následuje vyvázání proteinu FADD („FAS-associated protein with death domain“)
- komplex FAS/FADD je substrátem, na který se váže prokaspáza 8, která se následkem této interakce aktivuje
- aktivovaná kaspáza 8 štěpí (aktivuje) 9 dalších prokaspáz, jejichž aktivita vede k apoptóze buňky
- aktivovaná kaspáza 8 aktivuje Bid (uvolnění cytochromu c, Apaf, apoptozom, atd...)



Apoptóza vyvolaná FAS může být blokována:

- proteinem FLIP
- proteinem Bcl-2



# Spuštění apoptózy vnějším podnětem (TNF)

Receptor Fas je na povrchu buněk imunitního systému. Vazbou ligandu se aktivuje kaspáza 8 spouští se buněčná smrt.

(A) ACTIVATION OF APOPTOSIS FROM OUTSIDE THE CELL (EXTRINSIC PATHWAY)

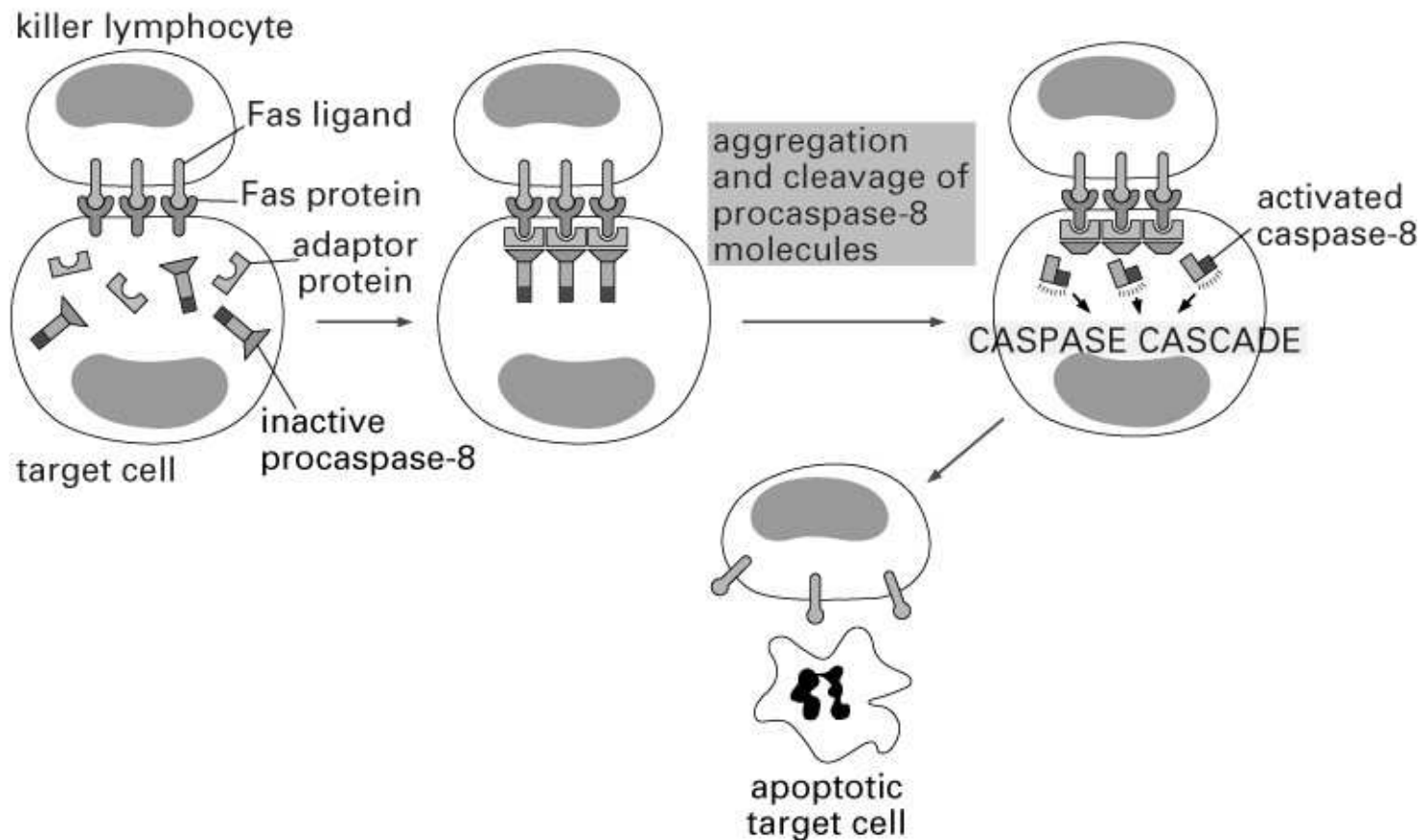
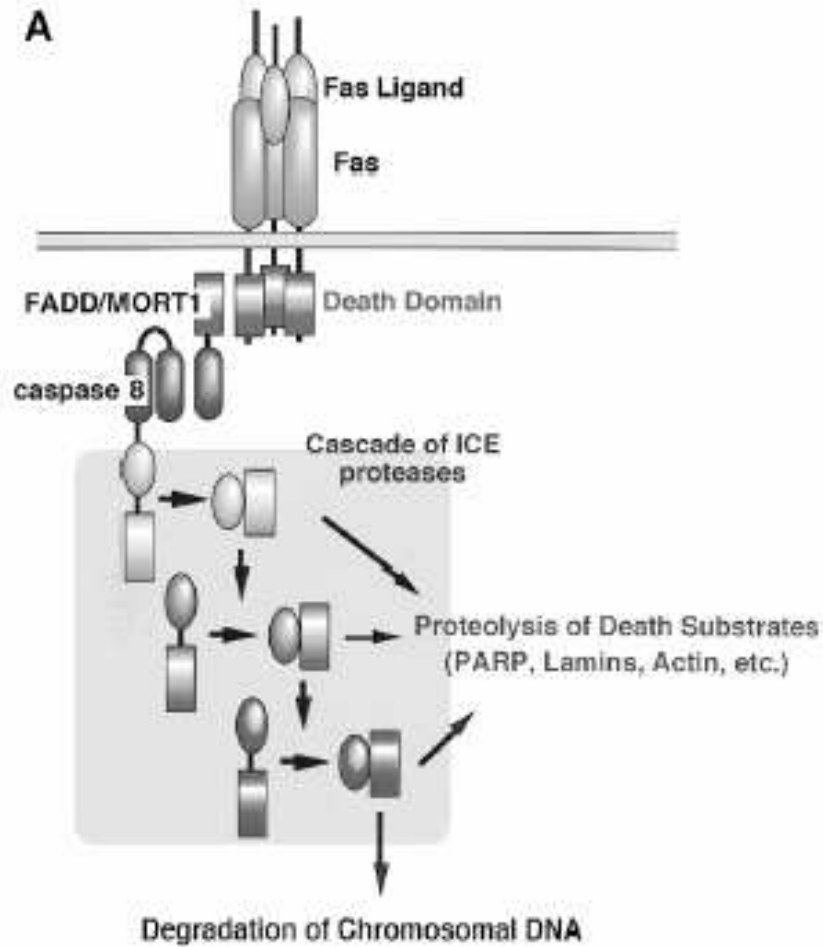
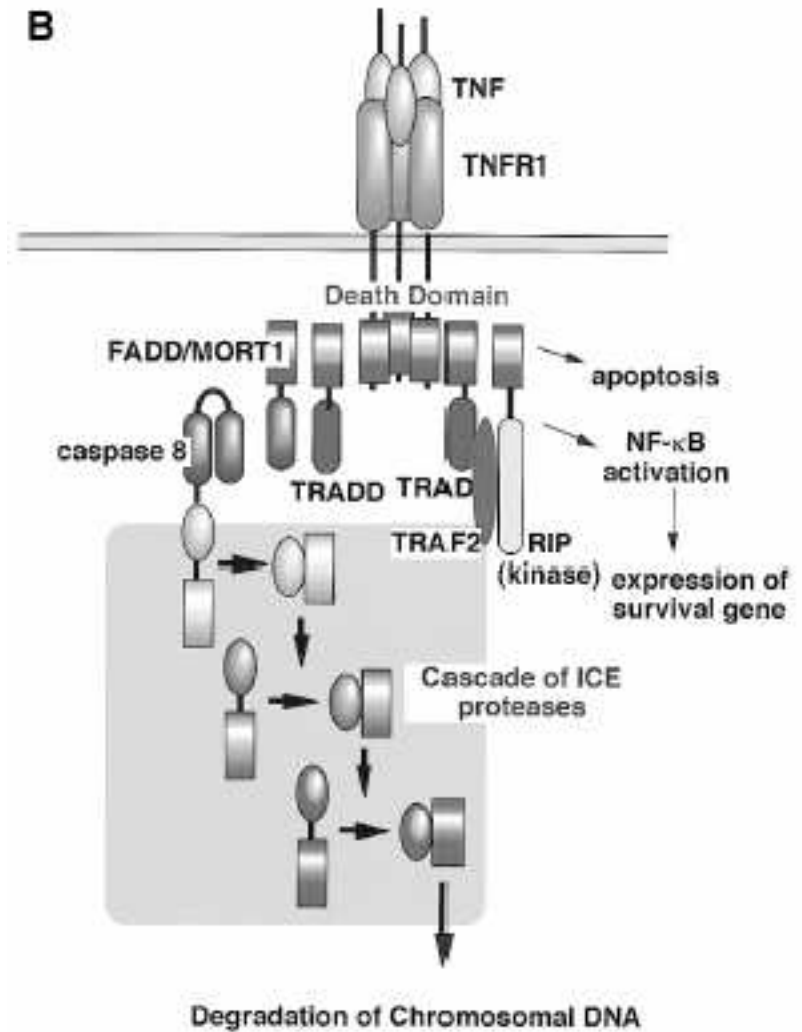


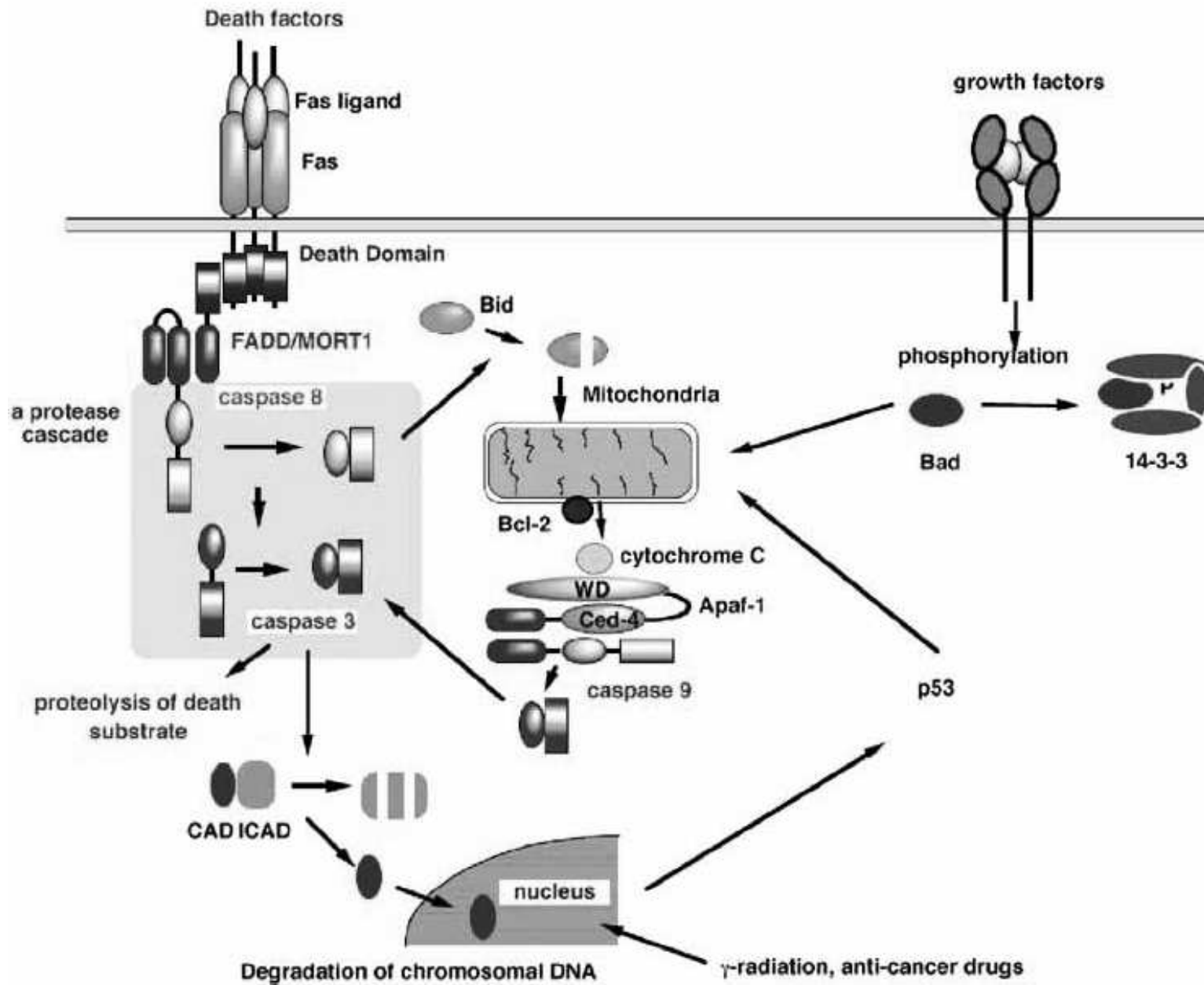
Figure 17-39 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# Fas

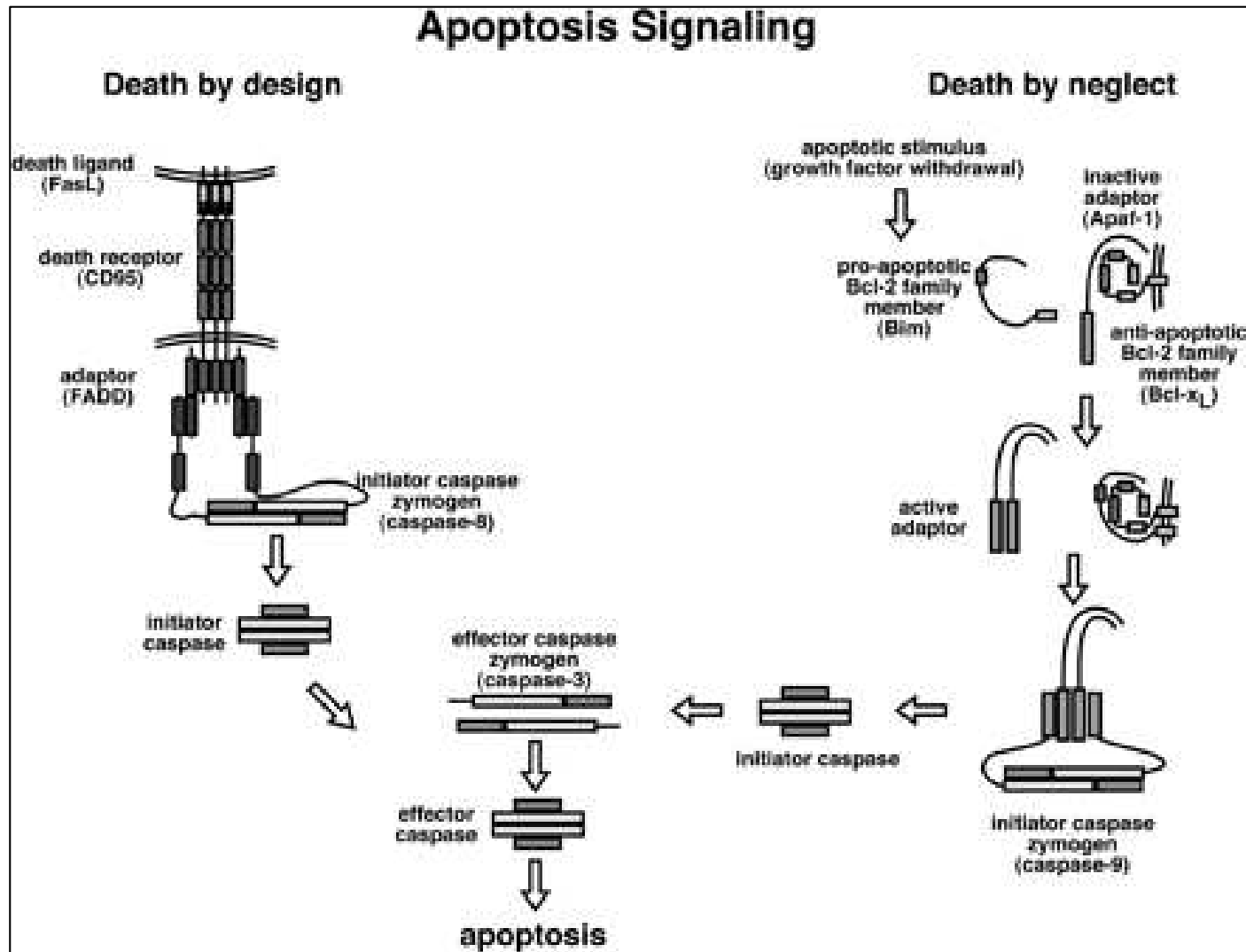


# TNF





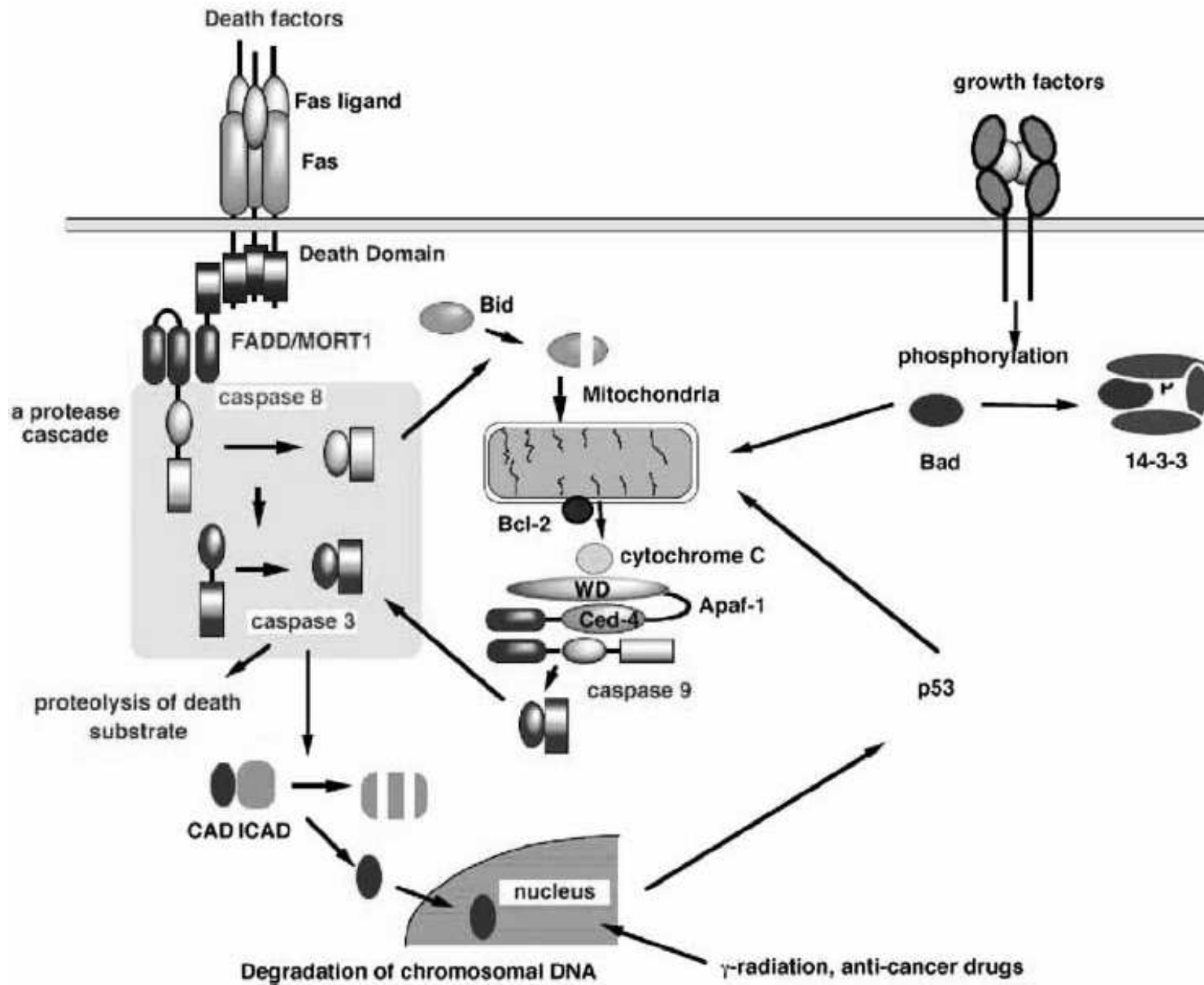
# Navržené mechanismy pro přenos apoptotických signálů



Strasser, O'Connor, and Dixit *Annu. Rev. Biochem.* 2000. 69:217-245

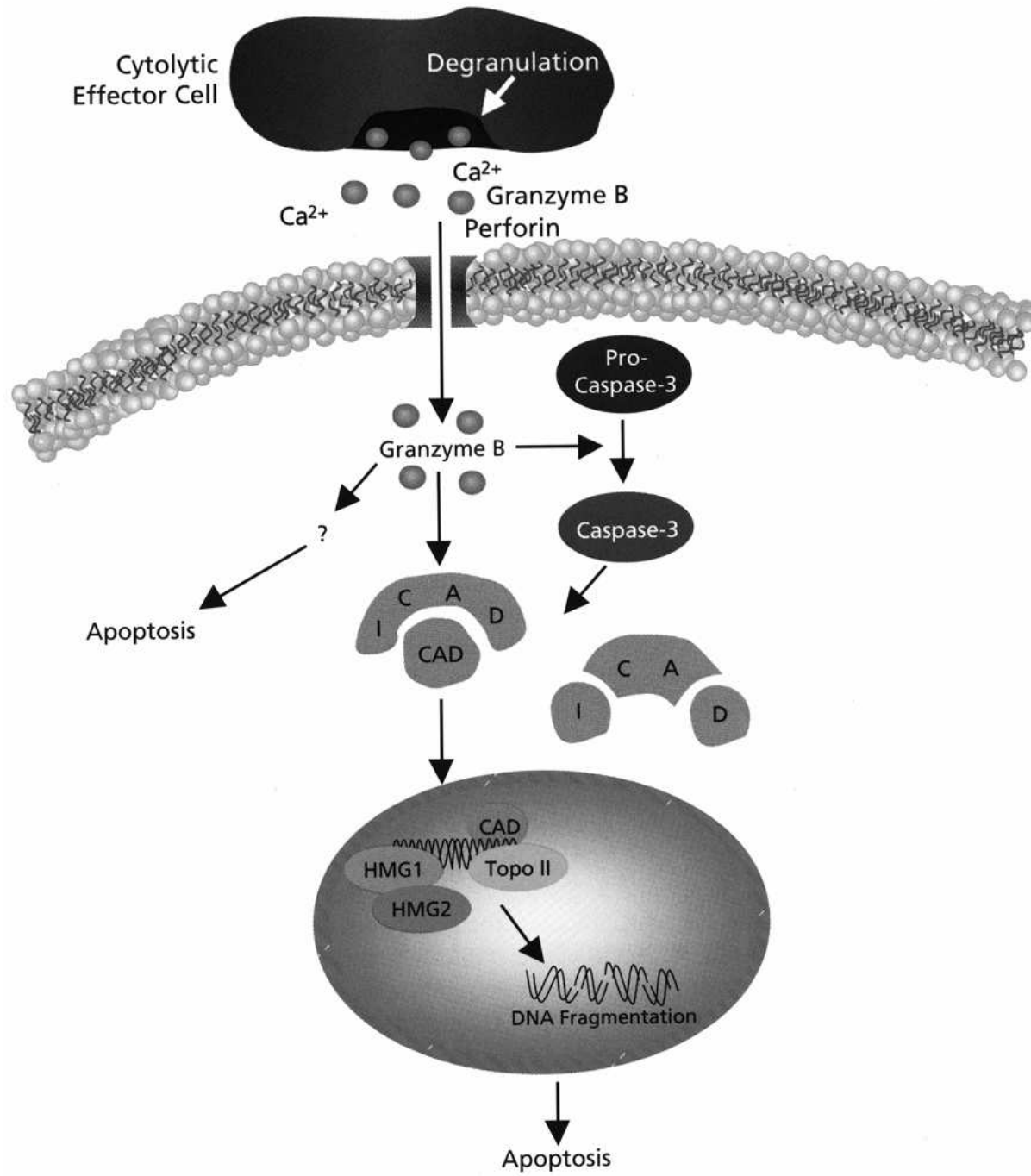
# Apoptóza zprostředkovaná proteinem p53

- p53 řídí buněčnou proliferaci a apoptózu
- poškození DNA, nedostatek růstových faktorů, exprese *myc* nebo E1A mohou indukovat apoptózu zprostředkovanou p53
- protein p53 se podílí na uvolnění cytochromu c z mitochondrií a následnou aktivaci kaspáz 9 a 3



## Apoptóza vyvolaná perforinem a granzymem B

- oba proteiny jsou uvolňovány cytotoxickými T buňkami
- Perforin: tvorba transmembránových pórů, průnik granzymu do buňky
- Granzym B: - štěpení efektorových prokaspáz (kaspáza 3)
  - - štěpení inhibitoru ICAD DNázy CAD





## Rakovinné buňky se neřídí regulačními signály pro buněčnou smrt

- zdravé buňky mohou žít jen za přítomnosti růstových faktorů, jinak odumírají apoptózou x nádorové buňky přežívají i bez růstových faktorů
- zdravé buňky s poškozenou DNA odumírají apoptózou x nádorové buňky přežívají i s poškozenou DNA
- rezistence k apoptóze je jedním z důvodů prodloužené životaschopnosti nádorových buněk

# Apoptóza a nádory

- zvýšená exprese *bcl-2* zaznamenána u různých pevných nádorů, leukémií i lymfomů
- zvýšená exprese *bcl-2* je nepříznivý faktor: zvýšená odolnost na chemoterapii
- terapie zaměřené na ovlivnění apoptózy se mohou uplatnit při léčbě některých nádorových i nenádorových chorob

# Apoptotic Pathways

