

# Role apoptózy ve vývoji

Mgr. Petra Jelínková

Bc. Dáša Doležalová

Jan Mašek

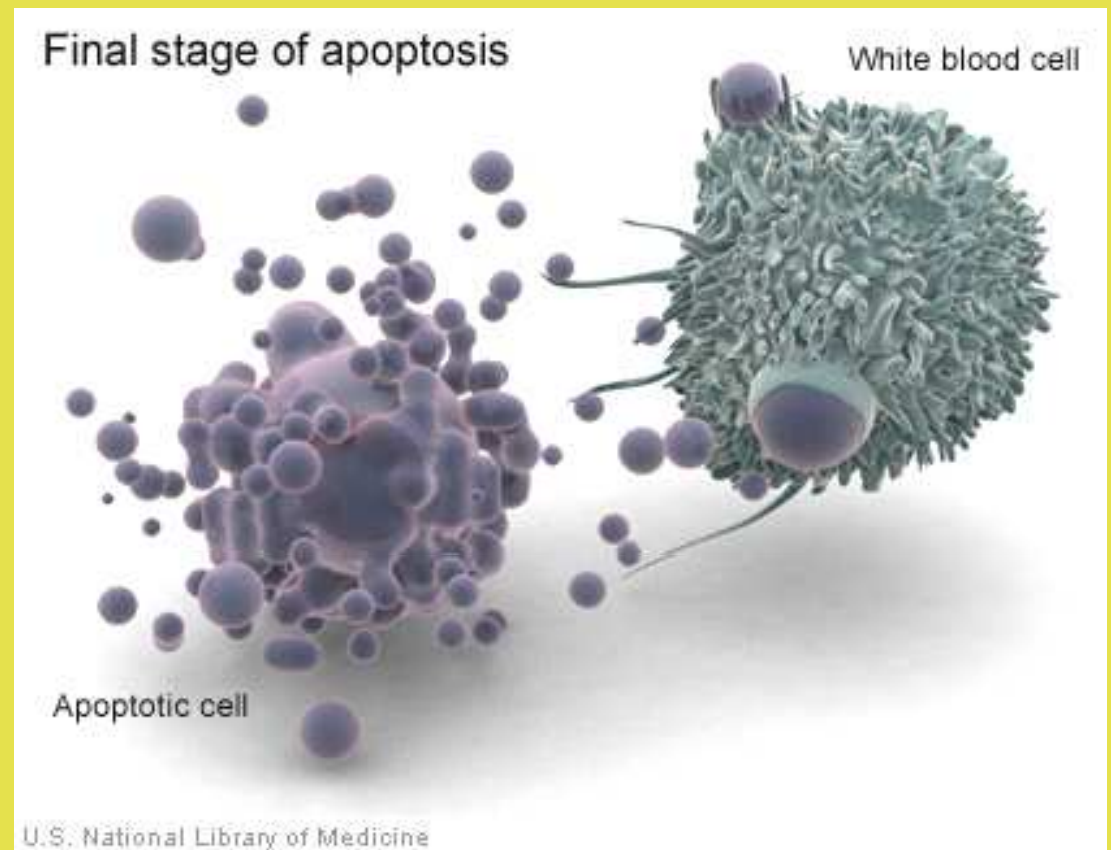
# Historie

- Carl Vogt - popsal princip 1842
- Walther Flemming – detailnější popis celého procesu
- od poloviny 70.let 20.stol. se této problematice, opět začíná věnovat pozornost – J. F. R. Kerr a jeho žáci - Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR.

Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J. Cancer 1972; 26: 239-257

# Obecné chápání apoptózy

- **Apoptóza** (programovaná b. smrt) bývá definována jako „sebevražedný“ mechanismus, nastávající po závažném poškození b.
- Svými biochemickými a morfologickými procesy se značně liši od nekrózy.
- Na rozdíl od nekrózy **nepostihuje** okolní buňky, nezpůsobuje zánět

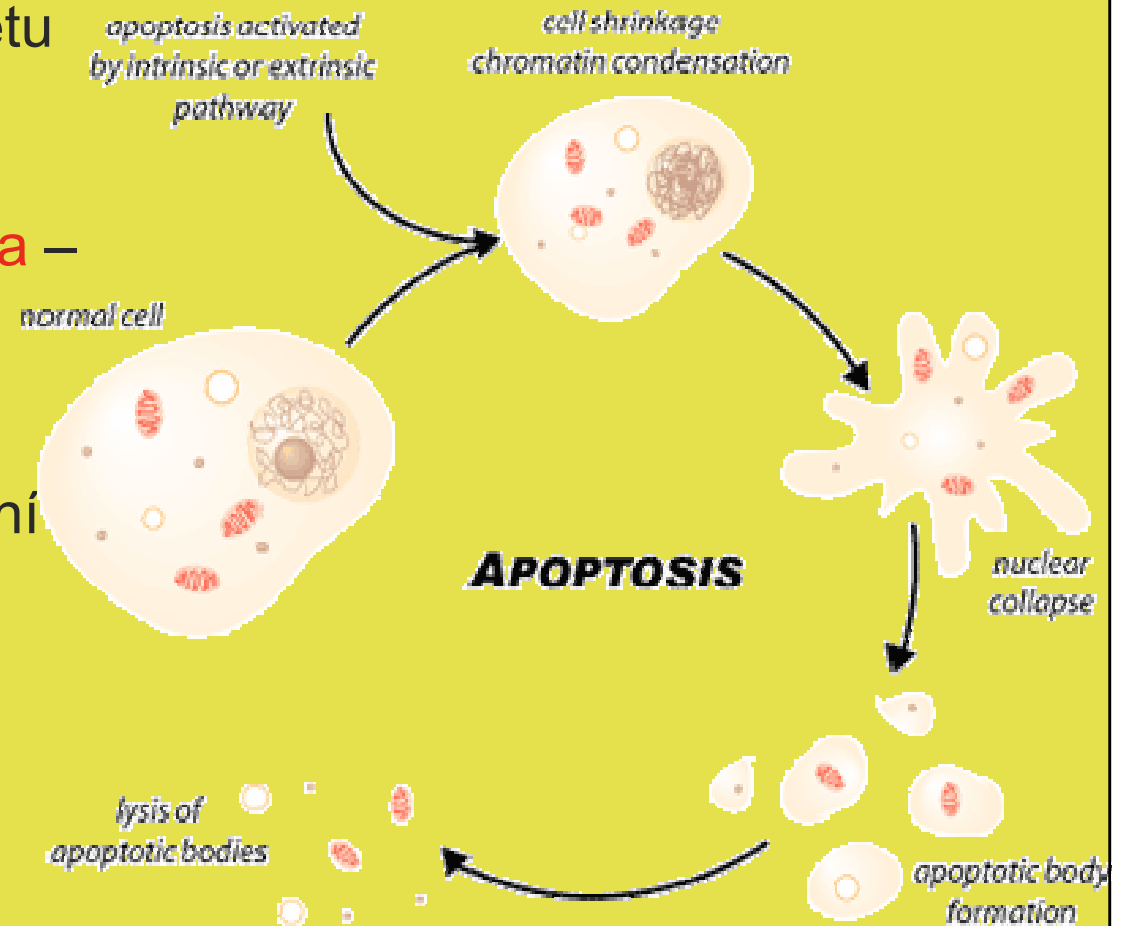


# Typy apoptózy

- Schweichel, Merker - The morphology of various types of cell death in prenatal tissues. Teratology. 1973 Jun;7(3):253-66.
- **Heterofágie** :  
smrt jednotlivých buněk – kondenzace jádra, cytoplazmy → fragmentace b. a následné pohlčení a degradace fragmentů okolními b.  
= Apoptóza
- **Autofágie (programmed cell death type II)** :  
smrt skupiny buněk nebo části celé tkáně, za tvorby autofágických vakuol degradujících buněčné komponenty

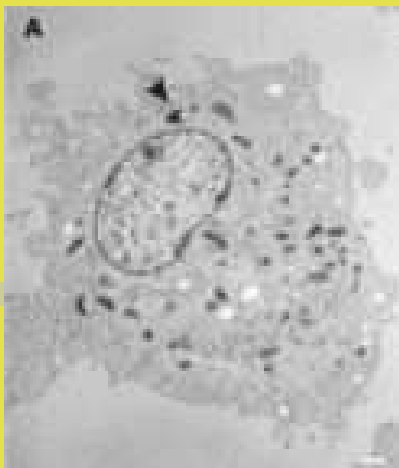
# Heterofágie = Apoptóza = programmed cell death type I

- zmenšování a zakulacování se b. – kaspázové odbourávání cytoskeletu
- zahuštění cytoplazmy, sbalení organel
- kondenzace chromatinu = **pyknóza** – pro apoptózu charakteristické zmenšení se a zahuštění jádra
- fragmentace chromatinu = **karyorrhexie** - kontrolované štěpení DNA pomocí apoptické endonukleázové aktivity
- **blebbing**
- tvorba apoptotických tělísek
- pohlcení fagocytem, absence zánětlivé rce.

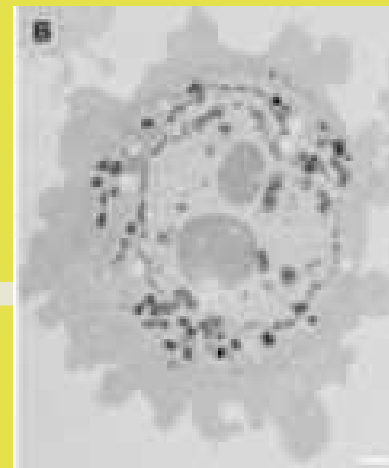


# Autofágie

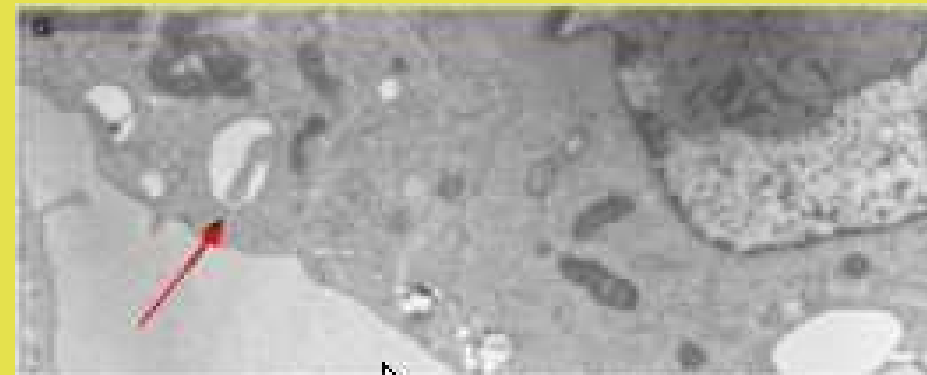
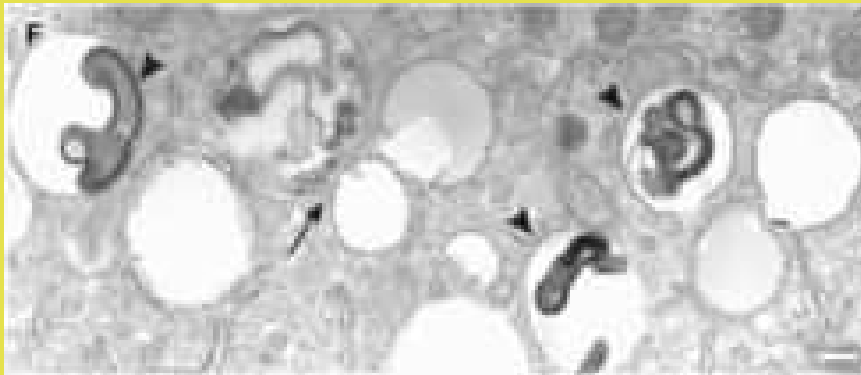
- sporná existence
- v této souvislosti se nejedná o proteolytické získávání energie v nepříznivých podmínkách, známé např. od kvasinek
- velká podobnost konzervovaných genů pro autofáгии / ?programmed cell death type II? napříč živočišnou říší
- probíhá i **bez kaspáz**



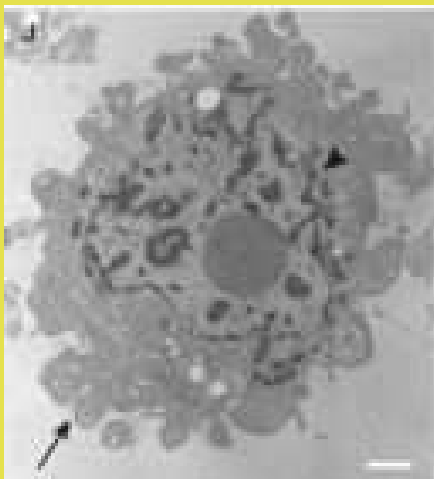
(A) kontrola – šipka ukazuje na autolysozóm obsahující myelin



(B) časná autofágická b



(F) autofagozóm fúzující s lyzozómem (G) mitochondrie v autolysozomu



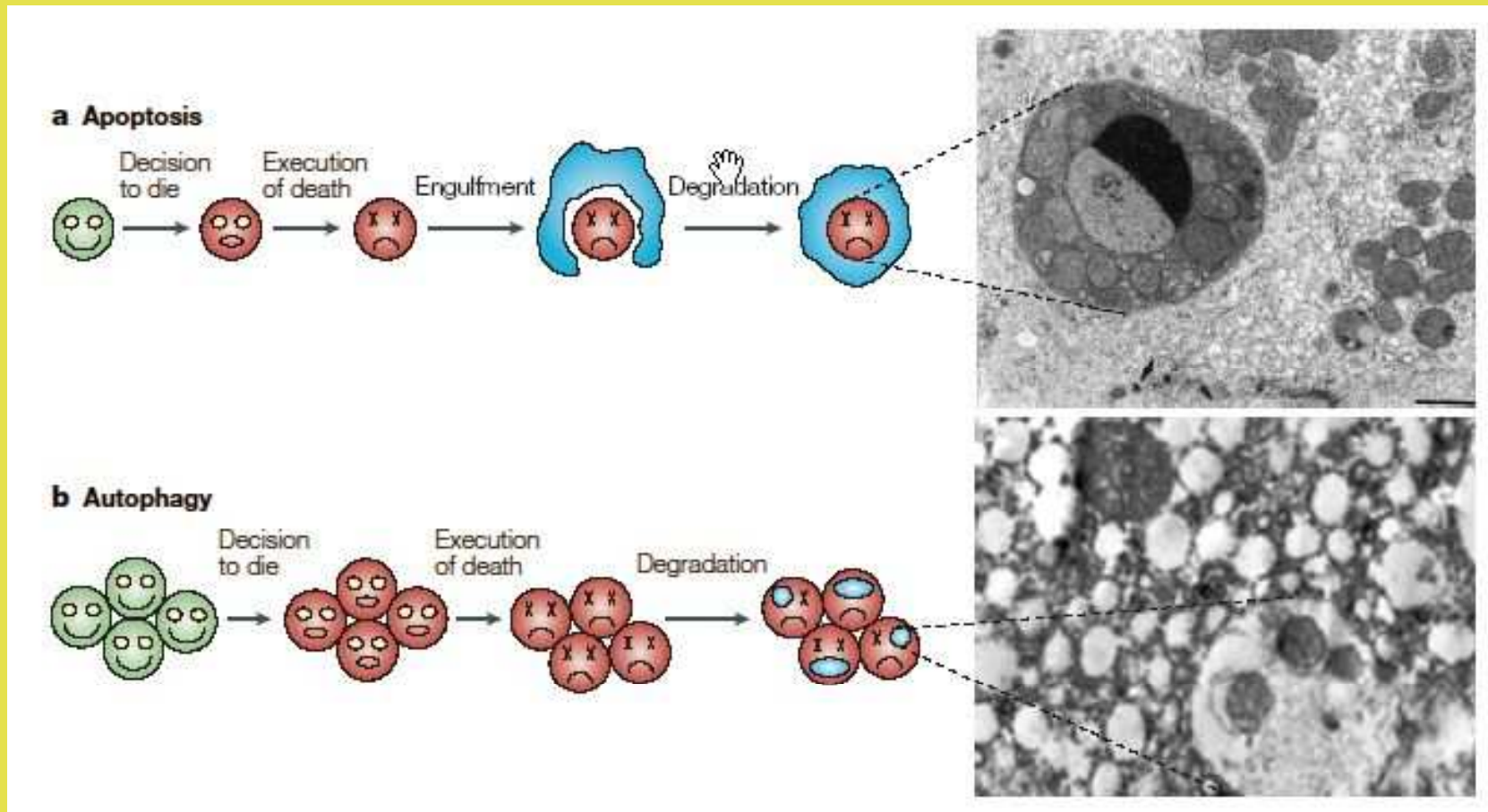
(J) pozdní fáze procesu – blebbing, velký počet vakuol, koncentrace mitochondrií v oblasti jádra, kondenzace chromatinu



(K) velmi pozdní fáze – úplně nejvíc vakuol, vymizení všech ostatních organel, definitivní kondenzace chromatinu

# Srovnání

a) jedna izolovaná b., pohlcení a degradace fagocylem



b) skupina bb/celá část tkáně, degradace vlastní lyzozomální aktivitou



# Význam apoptózy

- Zájem o výzkum apoptózy je nejen kvůli nezastupitelnému významu při vývoji organismu, ale i kvůli **spojitosti s chorobami**:

## nadměrná apoptóza

- neurodegenerativní onemocnění
- AIDS
- aplastická anémie
- roztroušená skleróza
- vývojové vady

## nedostatečná apoptóza

- leukémie
- lymfomy
- autoimunitní onemocnění
- osteoporóza
- vývojové vady

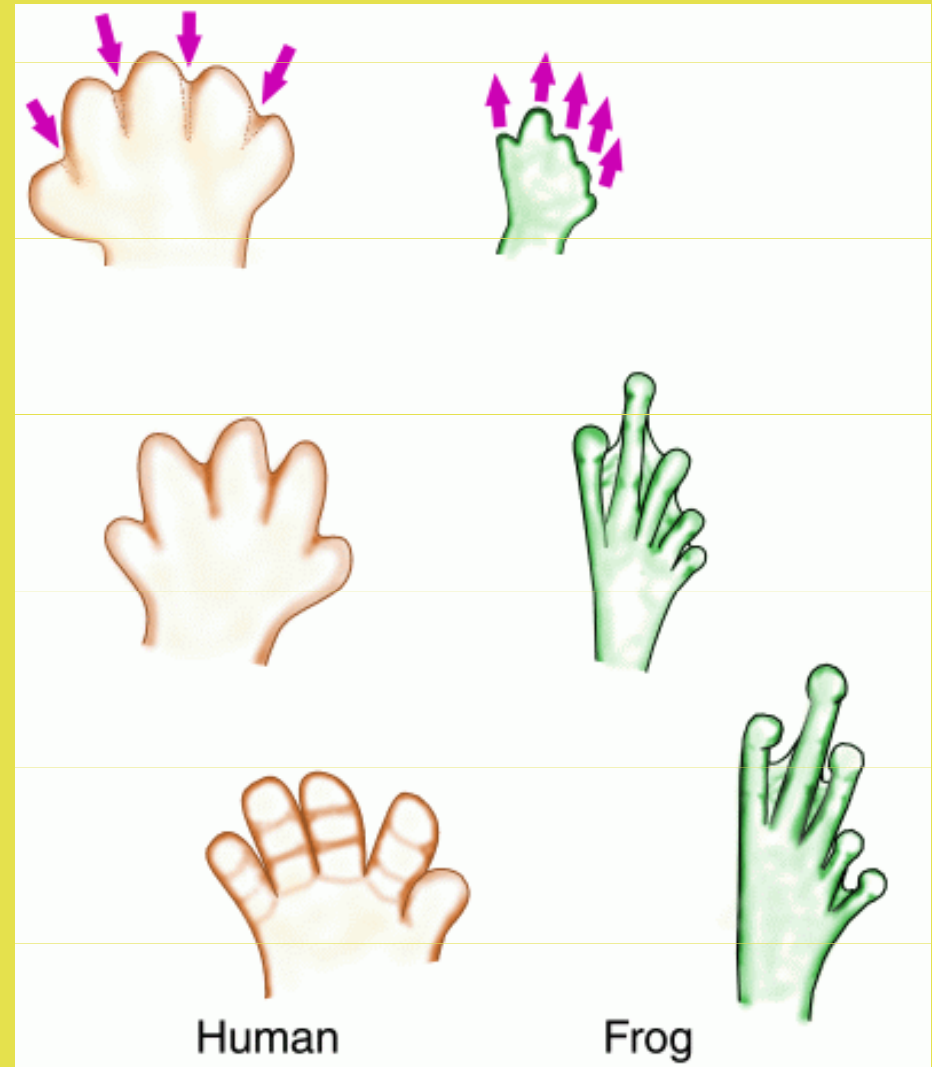
- O významu apoptózy svědčí udělení **Nobelovy ceny** za fyziologii a lékařství v roce 2002 za výzkum v oblasti „*genetická regulace vývoje orgánů a programovaná buněčná smrt*“.

# Kdy a proč apoptóza probíhá

- apoptóza je fyziologická součást embryonálního vývoje i života mnohobuněčných organismů, uplatňuje se v různých procesech a obdobích života:
  - při vývoji organismu - tvorba prstů, odpadnutí ocásku pulce
  - v normálních dospělých tkáních - jaterní bb, spermie, odlupování opálené kůže
  - při zrání buněk imunitního systému - eliminace T-lymfocytů v brzlíku
  - ve spojitosti s hormonálními změnami - zánik folikulů, odlučování endometria
  - u stárnoucích buněk - zánik megakaryocytů, bb oční čočky
- kde se realizuje z různých důvodů:
  - tvorba struktur
  - zánik struktur
  - eliminace nadbytečných buněk
  - eliminace abnormálních buněk

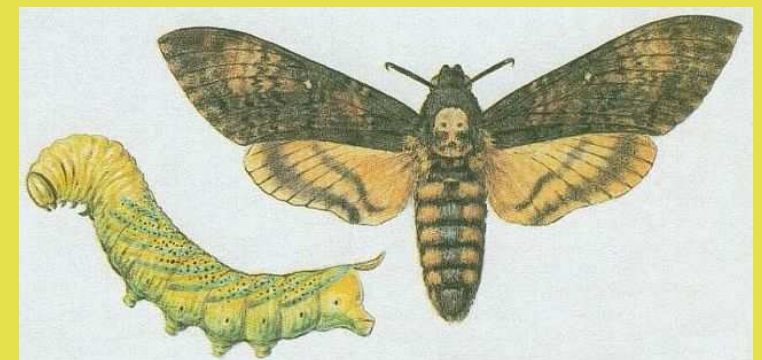
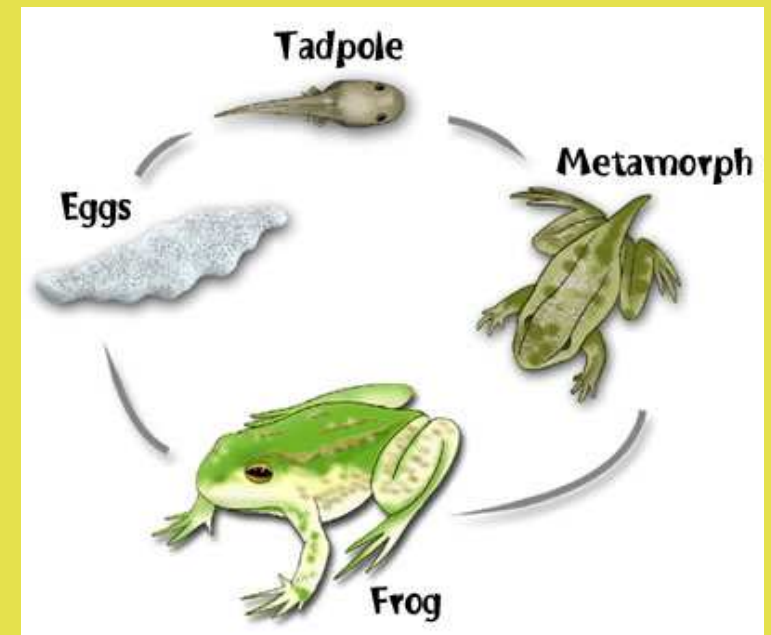
# Tvorba struktur

- invaginací – formování neurální trubice, prstů
- vychlípením – vznik očního váčku, sítnice
- splynutím – vznik patra



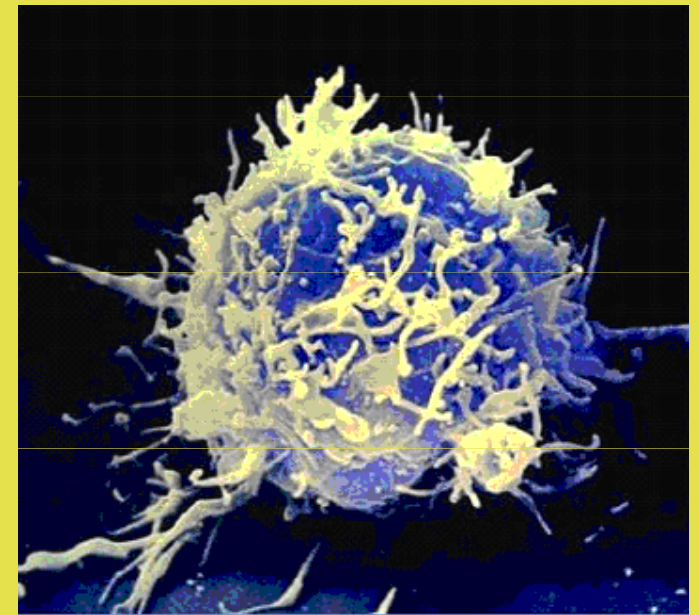
# Zánik struktur

- odstraňují se dále nepotřebné části
- hmyz – zanikají nepotřebné části a jiné se diferencují v dospělé; střeva, slinné žlázy
- obojživelníci – při přeměně pulce v žábu odpadá ocas, zanikají střeva
- savci – myš, člověk – potlačení struny hřbetní páteří, testosteron aktivuje smrt buněk prsních žláz u samců



# Eliminace abnormálních buněk

- - odstraňovány jsou buňky pro organismus
  - **nebezpečné** (nádorové)
  - závažně **postižené** - neopravitelně poškozená DNA
    - mutace - hrozí nekontrolované dělení
  - buňky **izolované** od kontaktu s ostatními - eliminace neuronů, které nevytvořily funkční synapse
  - **infikované** virem
  - **nadbytečně aktivované T-lymfocyty** - eliminace buněk, které by spouštěly imunitní reakci proti buňkám vlastního těla a klonů, které nejsou vůbec schopny reakce s antigenem. Takto zanikne třetina všech lymfocytů při dozrávání



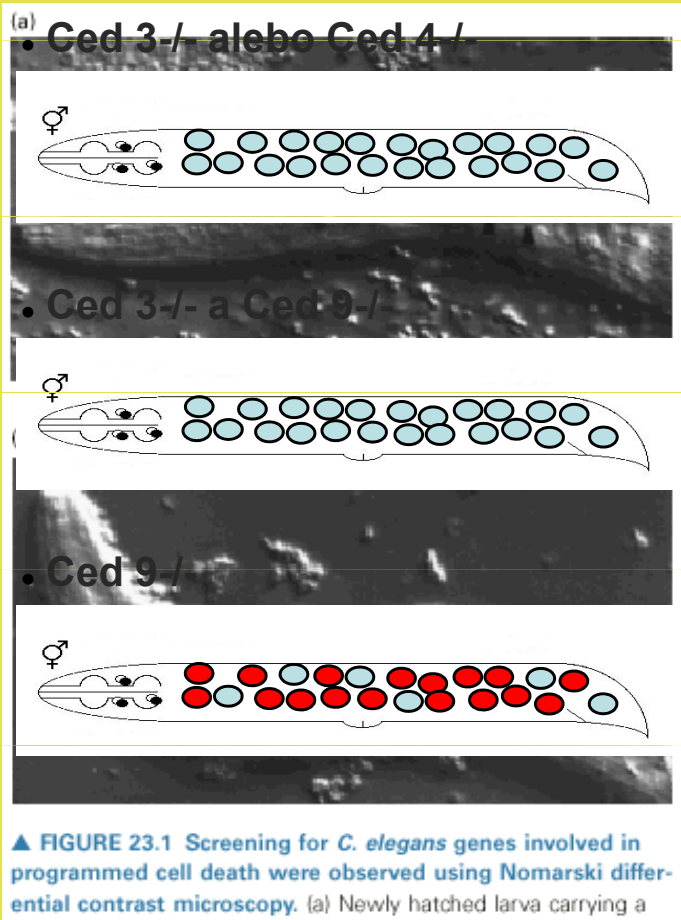
# [ Eliminace nadbytečných buněk ]

- apoptóza udržuje homeostázu mezi vznikem a zánikem buněk; cílem je optimální počet optimálně fungujících buněk v jednotlivých orgánech
- odstraňovány jsou buňky **nadbytečné či nevhodně lokalizované**
  - při vývoji nervové soustavy bezobratlých i obratlovců
    - srdce a motorické neurony kuřat
    - oční pigmentové buňky hmyzu
  - svalové buňky myší
  - erytrocyty po cca 80 dnech
- u modelového organismu *Caenorhabditis elegans* se zárodečná buňka rozdělí na 1090 buněk. Dospělá hlístice se skládá z 959, zbývajících **131 buněk během vývoje zániká**

# Molekulárne mechanizmy apoptózy

- Prvý krát popísané na *C. elegans*

- loss-of-function mutanti
- gény *ced* (“**cell death defective genes**”)
- regulačná funkcia: *ced 3*, *ced 4*, *ced 9*

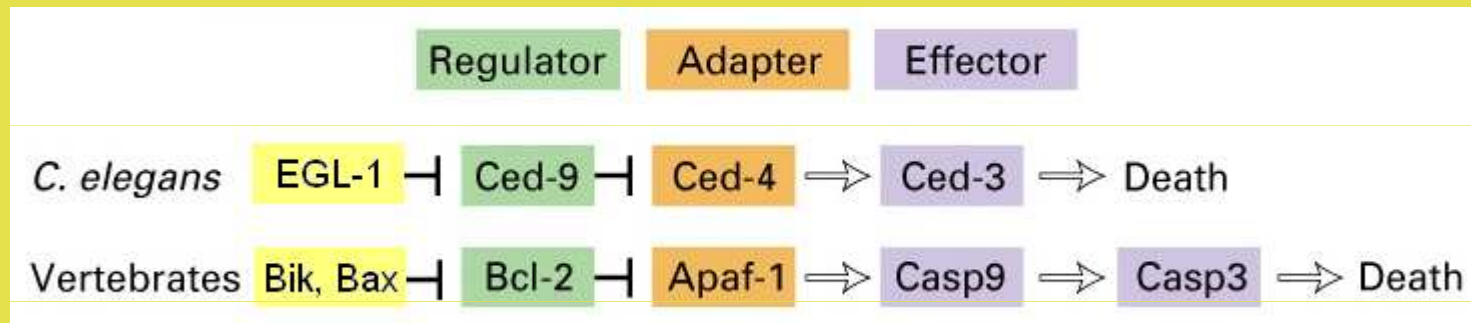


- Proteíny **Ced-3 a Ced-4** sú **nutné pre bunkovú smrť**

- Proteín **Ced-9** funguje jako **negatívny regulátor apoptózy**  
- ak je inaktivovaný, všetky bunky vyvíjajúceho se organizmu zomierajú;

- Anti-apoptotický faktor **Ced-9** môže byť inaktivovaný **väzbou Egl-1** = induktor apoptózy;

# Molekulárne mechanizmy boli v priebehu evolúcie konzervované



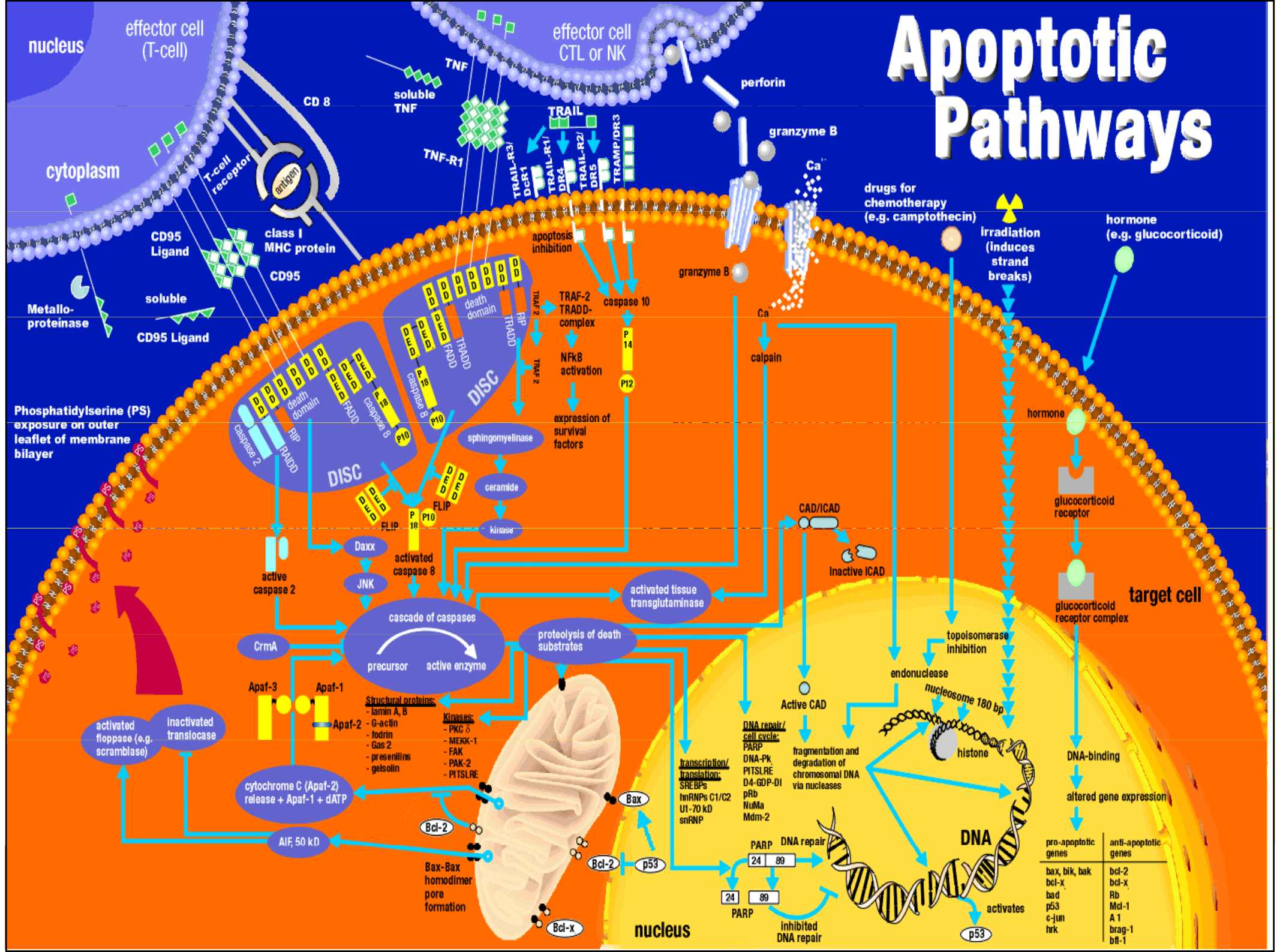
- Proteíny **Ced-9/BCL-2** integrujú pozitívne a negatívne signály a rozhodujú o tom, či apoptóza nastane alebo nie;
- Aktivácia **CED-4/Apaf-1** sprostredkovaná mitochondriami - predurčuje bunku k apoptóze;
- Za samotnú smrť zodpovedajú kaspázy **CED-3/kaspázy 8,9,3..**

## Kaspázy:

- cysteinylný **aspartát** -specifické proteázy
- štiepia rôzne substráty (kaspázy, PARP, laminin, aktin...) napr. **kaspáza 3** aktivuje špecifickú DNázu (CAD) a umožňuje tak **fragmentáciu DNA**)



# Apoptotic Pathways

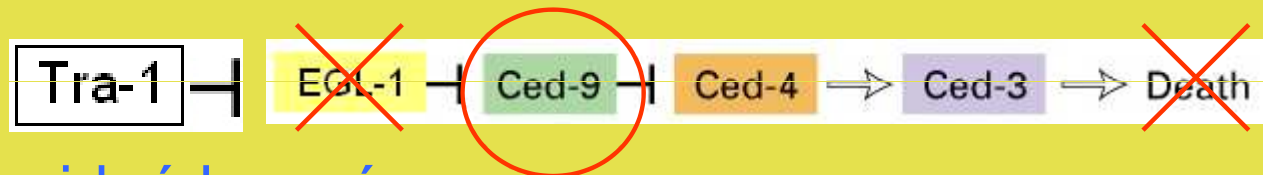


pro-apoptotic genes	anti-apoptotic genes
bax, bik, bak	bcl-2
bcl-x	bcl-x
bad	Rb
p53	Mcl-1
c-jun	A1
hrk	brag-1
	bfl-1

# Aktivácia apoptózy v priebehu vývoja

## 1) Informácia o príslušnosti k určitej bunkovej línii

- ***C. elegans*** (hermafrodit x samček)
- Niekoľko hermafrodit-špecifických neuronálnych buniek zaniká vo vývoji samčeka;
- Prítomnosť génu ***tra-1*** v bunkách hermafroditov zaručuje prežitie neurónov;



## 2) Steroidné hormóny

- regulácia apoptózy **zvýšením** aj **znížením** koncentrácie v tele
- **Nízka koncentrácia** - androgény zapríčiňujú apoptózu v bunkách prostaty (využitie pri „liečbe“ rakoviny prostaty u mužov);
  - ekdyson indukuje apoptózu u nervových buniek u hmyzu;
- **Vysoká koncentrácia steroidov**
  - aktivuje apoptózu v priebehu vývoja slinných žliaz u *Drosophily*;

# Aktivácia apoptózy v priebehu vývoja

## 3) „Survival“ extracelulárne signály

### - *D. melanogaster*

- **absencia rastových signálov aktivuje apoptózu** v gliách nervového systému u Drosofily (IAP)

- podný mechanizmus aj u obratlovcov

- dôležitá úloha pri **eliminácii buniek, ktoré sú nevhodne lokalizované**

- migrácia zárodočných buniek do gonád

- neuróny bez funkčných synapsií a pod.

- **kuře (*Gallus domesticus*) - vývoj neurálnej trubice**

- gradient rastového faktoru Sonic hedgehog (Shh);

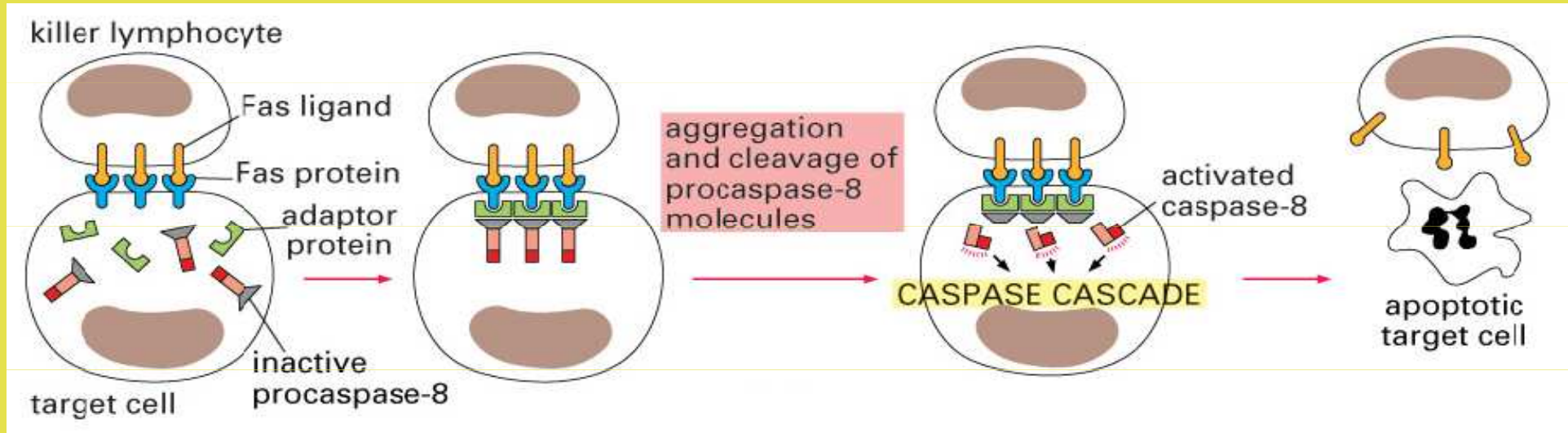
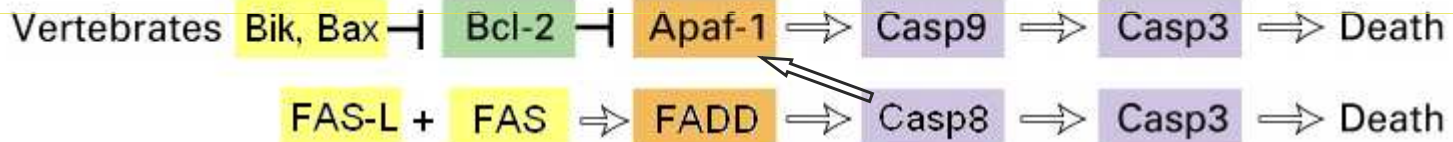
- bunky, ktoré signál príjmu (cez receptor Patched) proliferujú ďalej;

- absencia tohto signálu vedie k degradácii intracelulárnej domény receptora kaspázou 3 a dochádza k apoptóze;

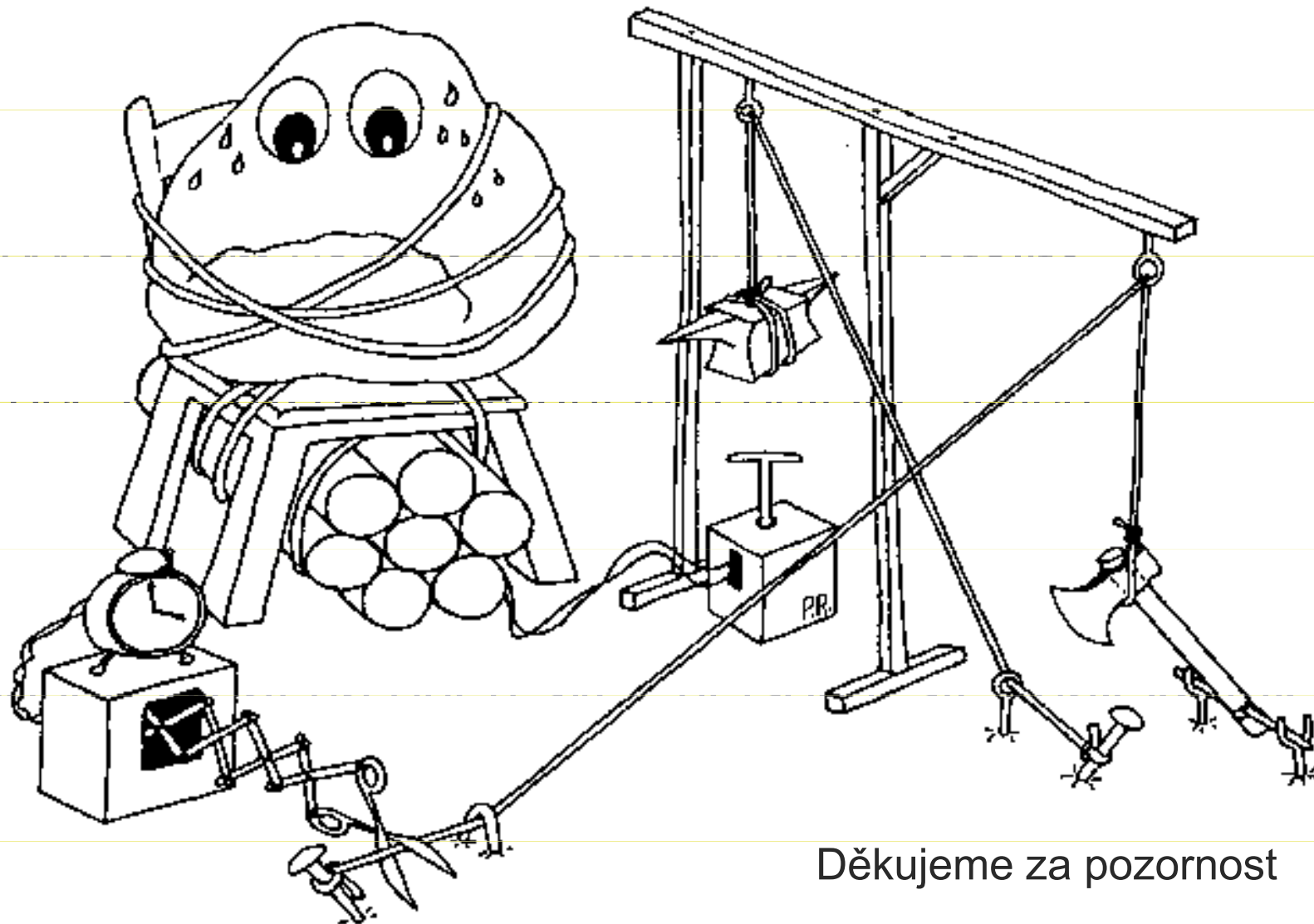
# Aktivácia apoptózy v priebehu vývoja

## 4) Membránové receptory smrti (aktivácia lymfocytmi)

- eliminácia abnormálnych alebo poškodených buniek



# Sečteno, podtrženo



Děkujeme za pozornost