**Реферат**

на тему: **«Апоптоз, как регулятор иммунной системы»**

**Введение**

Апоптоз – уникальный механизм сигналиндуцированной запрограммированной гибели одной клетки или группы клеток многоклеточного организма. Сигналы, запускающие механизмы апоптоза, активируют ферменты, которые вызывают фрагментацию ДНК на участки 50–300 п.н. и разрушение клетки. После этого начинаются фагоцитоз и элиминация апоптозных телец (дебриса) макрофагами.

Признаками апоптоза являются уменьшение размеров клетки, уплотнение и фрагментация хроматина, скопление его возле ядерной мембраны, уменьшение объема цитоплазмы. При этом гибель клеток не сопровождается воспалением и повреждением тканей. Апоптоз индуцируется большинством веществ (в малых концентрациях), вызывающих некроз, а также сигналами, поступающими от регуляторных клеточных молекул (гормонов, цитокинов, антигенов, суперантигенов, моноклональных антител).

Апоптоз ИКК развивается вследствие поступления «неполных» или недостаточно полных костимуляторных сигналов извне. Сигнал к апоптозу реализуется при взаимодействии его индукторов с мембранной молекулой – антигеном АРО-l/Fas(CD95), относящейся к семейству рецепторов ФНО. APO-MFas экспрессируется на клетках многих типов, a Fas лиганд – в основном па активированных Т-лимфоцитах. Активация Fas обусловливает его взаимодействие с Fas-ассоциированным белком, содержащим домен, индуцирующий смерть клетки.

Связывание прокаспазы 8 с этим доменом сопровождается ее активацией. В свою очередь, активированная форма каспазы 8 разрушает (активирует) еще 9 других прокаспаз, которые завершают процесс апоптоза. Функцией каспазы 3 являются активация 2, 6, 7 и 9 каспаз, конденсация хроматина и фрагментация ДНК. Она наиболее изучена. Процесс апоптоза может быть блокирован рядом белков ингибиторов (bcl-2 и др.).

Апоптоз служит регулятором количества клеточных популяций организма и важным фактором селекции клонов лимфоцитов. Он также играет исключительно важную роль во многих физиологических процессах – эмбриогенезе, формировании нейронов, системы иммунитета, тканевого гомеостаза, иммунологической толерантности. Противоположным апоптозу процессом является некроз – повреждение нормальных тканей.

**Актуальность темы**

В последние годы ученые различных биологических и медицинских специальностей заинтересовались проблемой апоптоза – запрограммированной гибели клеток. Клеточный состав большинства органов всех живых особей практически идентичен, колебания относительно невелики. Жизненный цикл клеток разных систем неодинаков, при этом происходит постоянная их смена. Этот закономерный клеточный феномен, наблюдаемый во всех ядросодержащих клетках организма человека и животных, J. Кerr и соавторы (1972) назвали апоптозом (греч. – осеннее опадание листьев с деревьев). Клеточное постоянство регулируется генетическими программами организма, одна из которых определяет интенсивность клеточного деления, другая – клеточную гибель.

В литературе встречаются два термина – «программированная клеточная смерть» и «апоптоз». Большинство авторов используют их как синонимы. Однако они характеризуют различные стороны гибели клеток. Запрограммированная гибель клеток – это более широкое понятие, определяющее совокупность сложных биохимических процессов, а апоптоз – морфологическое понимание смерти. J. Kerr и соавторы выдвинули концепцию о принципиальном различии нормальной клеточной гибели в зрелом организме как формы клеточного обновления и патологической гибели – некроза клеток при различных повреждениях тканей (травма, ишемия и др.). Для некроза характерно набухание и разрыв клеточной оболочки, выход клеточного содержимого в окружающую среду и развитие воспаления. При апоптозе происходит конденсация клеточных элементов (ядро, протоплазма), но клеточная мембрана сохраняется целой, погибшие клетки фагоцитируются макрофагами, воспаление не развивается. Непосредственные причины апоптической гибели клеток окончательно не установлены, но большинство авторов полагают, что значение имеет истощение энергетических ресурсов клетки.

Наиболее распространенный путь реализации апоптоза – это инициация физиологическими сигналами-индукторами, которые воспринимаются специализированными клеточными рецепторами. Их активация вызывает последовательные этапы внутриклеточных биохимических процессов. Сигналами являются многие факторы (биологически активные вещества, дисгормональные ситуации, антигенные перегрузки, антитела к рецепторам клеток для антигенов, некоторые цитокины и др.). Сигналами может быть как наличие, так и отсутствие необходимого вещества в среде, окружающей клетку. Характер ответа на эти сигналы неоднозначен и, как указывает А.А. Ярилин (1996), зависит от ряда факторов (особенности и состояние клеток, стадия их активации и дифференцировки). Восприятие сигналов осуществляется через белковые молекулы на мембране клеток – рецепторы, состоящие из трех частей (внеклеточной, внутриклеточной и промежуточной, пронизывающей мембрану клетки). Внеклеточная (наружная) часть рецептора может воспринимать сигналы определенного строения, находящиеся либо в свободном состоянии, либо на мембране других клеток.

Среди механизмов биологической гибели наиболее универсальным является механизм специфических рецепторов Fas (Fas R2, Apo1, CD95). Fas экспрессируется на поверхности многих типов клеток: активированных Т- и В-лимфоцитов, антигенпрезентирующих клеток, фибробластов, кератиноцитов, трансформированных вирусами и т.д. Он относится к семейству рецепторов фактора некроза опухоли (ФНО; TNF – tumor necrosis factor). Это мембранный белок, имеющий в своей структуре внеклеточный, трансмембранный и цитоплазматический участки (домены). Этот рецептор активируется соответствующим антигеном – Fas-лигандом (Fas-L). Fas-лиганд (Apo 1 L, CD 95 L) – индуктор апоптоза; это цитокин, имеющий две формы – нерастворимую, связанную с мембраной клетки, и растворимую, которая получается при отщеплении его от эффектора. Fas-L реагирует с тремя молекулами Fas, вызывает активацию каспазного каскада и апоптоза. Fas-L – мембранный протеин второго типа, аминотерминал которого находится в цитоплазме, а С-концевой участок – во внеклеточном пространстве. Связывание Fas-L и Fas, или соединение Fas с антителами IgM или IgG3, вызывает апоптоз в клетках, несущих Fas. В цитоплазматическом участке Fas имеется гомологичный домен, который вызывает индукцию сигнала гибели (death domen (DD) – домен смерти). В процессе активации возможно усиление экспрессии Fas-рецептора.

Внутриклеточная часть рецептора связана с определенными клеточными ферментами, поэтому в результате действия наружного сигнала в клетке происходят биохимические сдвиги, гидролиз липидов клеточной мембраны, изменение уровня в молекулах белковых регуляторов, что ведет к изменению набора внутриклеточных РНК и белков. Каспазы обусловливают расщепление антиапоптозных белков из семейства Bcl-2, протеолиз ингибитора ДНК-азы и фрагментацию, нарушение цитоскелета клетки. Следствием этого является уплотнение хроматина – главного внутриядерного компонента, содержащего ДНК и белки. Ядро распадается на фрагменты – хроматиновые тельца, разрушается цитоплазма.

Апоптоз может происходить и без участия каспаз, но при повышенном синтезе белков – промоутеров апоптоза семейства Вах и Ваk. Регуляция апоптоза определяется концентрацией в клетке белков-регуляторов. Это белки семейства Вах, молекулы которых могут образовывать димеры. Повышенное содержание их способствует апоптозу. Белок Bcl-2 тоже образовывает димеры, но он может соединяться с белком Вах, образуя гетеродимер Вах/Bcl-2, и апоптоз задерживается, т.е. увеличение содержания белка Вах способствует гибели клетки (если есть сигнал из окружающей среды), а при преобладании Bcl-2 клетка от гибели защищена.

В мембране митохондрий локализуются протеины ядерных генов Ced9/Bcl-2, одни из которых (Bcl-2, Bcl-xa) ингибируют апоптоз, другие (Вах, Ваk) – стимулируют его. Соотношение ингибиторов и стимуляторов определяет способность клетки к апоптозу. Известный ген р53 ответственен за синтез протеина р53, он локализуется в ядре клетки и регулирует экспрессию генов, блокирующих клеточный цикл. Белок р53, вызывая остановку деления клетки, предупреждает появление мутантных клеток. Гены семейства Bcl-2 контролируются геном р53, но эффект последнего неоднозначен, он может стимулировать и пролиферацию, и апоптоз, поэтому исход зависит от особенности программы клеточной линии, наличия цитокинов, а также ряда других факторов.

Поскольку передача апоптогенных сигналов индуцируется разнообразными факторами и воздействиями, следовательно, и пути их поступления внутрь клетки различны. В зависимости от характера пускового сигнала различают несколько разновидностей апоптоза. Если сигнал передается через клеточные рецепторы, то происходит активация тирозинкиназ, фосфолипазы С, включаются ионы кальция, Са2+/кальмодулин-зависимая протеинфосфатаза, протеинкиназы. Это ведет к активации Т-клеток, их митозу.

При другой разновидности апоптоза, вызванной глюкокортикоидами, участвует система циклического АМФ. При повышении его уровня вследствие активации аденилатциклазы и фосфолипазы А2 или при ингибировании фосфодиэстеразы цАМФ усиливается фрагментация ДНК и наступает гибель клетки – эффект через активацию протеинкиназы А.

Если сигнал происходит от цитокинов (ФНО-a), то это ведет к каскаду реакций, формирующих транскрипционные факторы, активации генов и апоптозу через Fas-рецепторы. Важная роль в развитии апоптоза отводится ионам кальция и активаторам протеинкиназы С.

Одним из основных механизмов реализации апоптоза является деградация ДНК, проходящая ряд этапов с участием Са2+, Mg2+-зависимой эндонуклеазы, что ведет к фрагментации хроматина и ядра. Основная причина гибели клеток – истощение пула АТФ вследствие активации поли (АДР-рибоза) полимеразы в ответ на повреждение ДНК. Расщепление ДНК сопровождается энергетическим голоданием, которое развивается в связи с увеличением расхода АТФ на репарацию поврежденной ДНК, усиливается активация фермента поли (АДР-рибоза) полимеразы, истощается АДР-рибозный комплекс.

Проявления апоптоза в основном биохимические, морфологические и цитофлюорометрические. Биохимическими проявлениями апоптоза являются активация ферментов (эндонуклеаз, трансглутаминазы), фрагментация ДНК – расщепление в результате ее разрыва при электрофорезе выявляется в виде «лесенки». При некрозе же признак деградации ДНК – «размазанный» характер миграции ДНК при электрофорезе, изменение структуры клеточной мембраны. Морфологические признаки апоптоза: сморщивание клеток и уплотнение мембран, что обусловливается активацией трансглутаминазы, которая вызывает перекрестное сшивание мембранных белков.

Можно выделить 2 стадии клеточных изменений:

– первая стадия – преапоптоз – уменьшение размеров и сморщивание клетки, уплотнение и фрагментация хроматина; изменения в ядре (появляются осьмиофильные скопления хроматина по периферии). Эти изменения обратимы. На стадии преапоптоза процесс гибели клетки может быть задержан специфическими регуляторами, блокирующими каспазы-индукторы либо их разрушающими. Активация же эффекторных каспаз приводит к гибели клетки;

– вторая стадия – инвагинация в ядерной мембране, хроматиновые фрагменты отходят от ядра (апоптические тельца). В цитоплазме происходит конденсация и сморщивание гранул, расширение эндоплазматического ретикулума, отмечается потеря клеточной мембраной ворсинок и нормальной складчатости, формирование на поверхности клетки пузырей. Следовательно, наиболее значимые изменения при апоптозе происходят в ядре клетки и выражаются в конденсации и фрагментации хроматина, что является результатом деградации ДНК вследствие активации эндонуклеаз.

Цитофлюорометрическое изменение структуры мембран ведет к экспрессии на поверхности клеток детерминантных групп (они необычны), благодаря чему апоптические клетки быстро распознаются фагоцитами (макрофагами, нейтрофилами, мезангиальными клетками почек) как чужеродные, поглощаются ими и разрушаются.

Особую роль в жизнедеятельности иммунной системы играет запрограммированная гибель клеток. На всех этапах клеточного развития – пролиферации и дифференцировки – она является методом отбора иммунокомпетентных клеток (ИКК), регулирует их ответ на антигенные стимулы, определяет характер иммунного ответа или формирование иммунологической толерантности. На ранних этапах кроветворения в отборе ИКК регулирующую функцию выполняет фактор стволовых клеток (SCF). На дальнейших этапах дифференцировка клеток определяется очень многими факторами, выполняющими роль как индуктора, так и факторов выживания.

Существуют две альтернативные формы ответа различных популяций клеток иммунной системы на антигенную стимуляцию – пролиферация или апоптоз.

Апоптоз – активная форма реакции ИКК не только на неблагоприятные, но и на физиологические, и на активирующие (антигены, митогены) воздействия. Апоптоз ИКК обусловлен взаимодействием рецептора Fas (CD 95/Apo 1) и его лиганда Fas-L, которые экспрессируются на них. Экспрессия Fas увеличивается под влиянием интерферона-γ и ИЛ-2. Индукция Fas-L наступает при антигенной стимуляции (Moulian N. et al., 1998). Установлено, что более 95% тимоцитов, поступающих в вилочковую железу (тимус), удаляются путем апоптоза в ходе их селекции и облучения (Wylle A.H., 1980). Апоптоз в тимусе совершается без системы Fas/Fas-L. Апоптоз Т-клеток внутри тимуса обусловлен действием агентов, среди которых глюкокортикоиды или продукты со сходным действием, а также комплексы рецепторовTCR-CD3 с антигенами.

Большинство незрелых Т-лимфоцитов погибает на ранних этапах своего развития из-за неправильного направления Т-рецептора, или аутореактивности. На периферии зрелые Т-клетки распознают собственные антигены и гибнут при периферической клональной делеции с участием Fas-рецепторов в силу активации их аутоантигенами. Имеются и мембранные молекулы, способные модифицировать активационный сигнал (CD4 и CD8), их перекрестное сшивание активирует апоптоз через TCR-CD3. Защищают клетки от активационного апоптоза мембранные молекулы: для В-лимфоцитов – CD40, для Т-лимфоцитов – CD28.

**Апопто́з** (греч. απόπτωσις – опадание листьев) – явление программируемой клеточной смерти, сопровождаемой набором характерных цитологических признаков (маркеров апоптоза) и молекулярных процессов, имеющих различия у одноклеточных и многоклеточных организмов.

Апоптоз – форма гибели клетки, проявляющаяся в уменьшении её размера, конденсации и фрагментации хроматина, уплотнении наружной и цитоплазматической мембран без выхода содержимого клетки в окружающую среду. Несмотря на то, что обычно более принципиальным является аспект программированности и активный характер гибели, чем сопутствующие ей морфологические изменения, чаще используется термин «апоптоз», вероятно, из-за его краткости. Содержание

**История**

Термин введён в 1972 году Керром с соавторами для обозначения формы гибели клеток, прототипом которой является гибель тимоцитов под действием глюкокортикоидов. Эта форма клеточной смерти была отождествлена с ранее описанной программированной гибелью клеток: разница в обозначениях отражает способы идентификации гибели – морфологический в первом и биохимический во втором случае. Несмотря на критику, это отождествление, допускающее использование двух терминов как равнозначных, сохраняется до настоящего времени.

Было предложено различать два типа клеточной смерти: апоптоз и некроз. Принципиальное различие: тогда как некроз является результатом незапланированного события и происходит спонтанно, апоптоз является чётко регулируемым процессом элиминации клетки. Некроз развивается при воздействии внешних по отношению к клетке повреждающих агентов и неадекватных условий среды (гипоосмия, крайние значения рН, гипертермия, механические воздействия, действие агентов, повреждающих мембрану, формирование пор в мембране с участием факторов комплемента).

**Механизмы апоптоза**

Белки, участвующие в апоптозе: Апоптосома

1. С помощью сигнала клеточной гибели

2. С помощью CD8+ клеток

3. С помощью гена P53

4. С помощью гена MYC

**Различие апоптоза и некроза**

Программированная гибель является результатом реализации генетической программы или ответом на внешние силы и требует затрат энергии и синтеза макромолекул de novo. Главное отличие некроза от апоптоза, в том, что некроз – это смерть клетки вследствие её повреждения (химического, термического, рентгеновского излучения и т.д.). Апоптоз – это запрограммированная клеточная гибель, которая происходит вследствие работы многих ферментов, как самой клетки, так, возможно, и других клеток-соседей.

Во время некроза клетка вакуолизируется (изменяется строение наружной плазматической мембраны, по градиенту концентрации вода поступает внутрь клетки, все органеллы начинают набухать), лизосомы переваривают все содержимое клетки, клетка лопается. Её содержимое выбрасывается во внеклеточное пространство, что, следовательно, вызывает воспаление, и в дальнейшем поглощается фагоцитами.

Характерными признаками апоптоза, позволяющими отличить его от некроза, являются: переход фосфатидилсерина из внутреннего монослоя цитоплазматической мембраны в наружный монослой, выход цитохрома С из межмембранного пространства митохондрий в цитоплазму, активация цистеиновых протеиназ (каспаз), образование активных форм кислорода, сморщивание (blebbing) цитоплазматической мембраны, уменьшение объёма клетки, разрывы нитей ядерной ДНК в межнуклеосомальных участках, конденсация хроматина по периферии ядра, последующий распад ядра на части, фрагментация клеток на везикулы с внутриклеточным содержимым – апоптотические тельца. Апоптотические тела захватываются соседними клетками, могут и фагоцитами, как в случае некроза. Выброса клеточного содержимого не происходит, воспаления не возникает. Некроз характерен для группы клеток, апоптоз для одной.

Как сейчас известно, кроме апоптоза, есть и другие виды программируемой клеточной смерти. Они характеризуются другими наборами признаков, но все они являются тщательно регулируемыми процессами. Апоптоз является полезным и необходимым для жизнедеятельности существа процессом.

**Значение апоптоза**

Апоптоз является генетически запрограммированным защитным механизмом, который направлен на запуск самоуничтожения патологически измененных, мутировавших клеток (содержащих дефектные ДНК), ради сохранения целостности макроорганизма. Как правило, борьба с дефектными клетками не ограничивается только запуском апоптоза, и протекает при активации реакций клеточного и гуморального иммунитета. Проявлением недостаточности апоптоза служит неконтролируемое деление атипичных клеток, то есть образование и рост опухоли. В то же время, усиленный апоптоз может приводить к раннему старению, развитию клеточной аплазии и дегенерации. В настоящее время при разработке современных методов противоопухолевого лечения немало внимания уделяется процессам клеточной регуляции и индукции апоптоза.

**Апоптоз и иммунитет**

С 1990-х годов апоптоз активно изучается, поскольку выяснилось, что нарушения апоптоза приводят к различным болезням. Так, недостаток апоптоза приводит к раку и другим опухолям; избыток апоптоза приводит к потере клеток, например при нейродегенеративных процессах.

Апоптоз наступает, в частности, если клетка заражена вирусом или слишком сильно повреждена агрессивными химическими агентами или ионизирующим излучением (например, рентгеновскими лучами). Решение об апоптозе клетки может принять она сама, соседние клетки или иммунные клетки. Если клетка не в состоянии произвести апоптоз из-за мутации или заражения вирусом, она может начать делиться бесконтрольно, что приводит к опухоли. Так, человеческий папилломавирус использует свой ген Е6, чтобы разрушить белок p53, критически важный для апоптоза. В результате этот вирус приводит к развитию рака шейки матки, то есть является онковирусом.

Апоптоз важен для иммунитета: Т-клетки, созревая в тимусе, тестируются на способность распознать чужеродный антиген. Те из них, кто не способен это сделать (а это около 97% всех вновь созревающих клеток), приговариваются к апоптозу. Следующий тест – тест на безопасность «для своих»: клетки, слишком сильно реагирующие на собственные белки, тоже приговариваются к апоптозу.

В дальнейшем, встретив клетку с чужеродным белком, Т-клетки и B-клетки подают ей сигнал на совершение апоптоза.

**Апоптоз и гомеостаз нормального развития**

Апоптоз играет важную роль в поддержании гомеостаза. Ежедневно у здорового человека возникает от 50 до 70 миллиардов новых клеток, и такое же количество их гибнет, в основном за счёт апоптоза. За год обновляется столько клеток, что их общий вес равен весу тела.

В отличие от некроза, при котором клетка раздувается и лопается, выбрасывая своё содержимое (потенциально вредное) в межклеточное пространство, при апоптозе клетка сжимается и часто делится на части. В результате остатки клетки могут быть поглощены (путём фагоцитоза) соседними клетками или макрофагами.

Апоптоз играет важную роль в развитии эмбрионов и морфогенезе животных и растений. Так, например, разделение пальцев у эмбриона требует, чтобы клетки, находящиеся между пальцами, погибли.

**Роль апоптоза в защите от онкологических заболеваний**

Современная химиотерапия опухолей часто базируется на усилении апоптоза в раковых клетках исходя из того, что они более чувствительны к нему, нежели обычные не-раковые клетки. К сожалению, на продвинутых стадиях опухолевого процесса апоптоз в раковых клетках, как правило, подавлен. Некоторые интерфероны усиливают экспрессию гена p53, помогая апоптозу. В результате эти интерфероны помогают борьбе с раком. Новое лекарство от рака лёгких гефитиниб ингибирует белок-рецепторную протеинкиназу EGFR-тирозинкиназа (EGFR tyrosine kinase), которая производится в раковых клетках лёгких и запускает каскад реакций, активирующих апоптоз. В результате гефитиниб используется для лечения рака лёгких с минимумом побочных эффектов. Лилинг Янг (Liling Yang) и др. [1] обнаружили, что в одном из типов раковых клеток лёгких, NCI-H460, апоптоз блокируется избыточным выделением вещества, которое назвали X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP). Этот ингибитор, связываясь с каспазой-9, подавляет действие цитохрома С. Янг и её соавторы синтезировали пептид SmacN7, уничтожающий XIAP-ы, благодаря чему апоптоз снова начал действовать, и раковые опухоли у мышей стали уменьшаться.

**Литература**

апоптоз гибель клетка онкология

1. Белозеров Е.С., Мешкевич В.С. Клиническая иммунология-Изд-во «Альмар», 2006 г.

2. Гордеева А.В., Лабас Ю.А., Звягильская Р.А. Апоптоз одноклеточных организмов: механизмы и эволюция // Биохимия, 2009, том 69, вып. 10, с. 1301–1313 pdf html

3. Галицкий В.А. Возникновение эукариотических клеток и происхождение апоптоза // Цитология, 2008, том 47, вып. 2, с. 103–120

4. Клиническая иммунология / Под ред. Караулова А.В. М-2005 г.

5. Митин А.А. Клиническая иммунология – СПб, 2008 г.