**Лекция 12**

**Тема: «Клеточная смерть: апоптоз и некроз»**

Различают два вида клеточной гибели: насильственная смерть от повреждения – *некроз* и запрограммированная клеточная смерть – *апоптоз*.

**Некроз – это посмертные изменения клетки необратимого характера, заключающиеся в постепенном ферментативном разрушении и денатурации ее белков**. Он развивается при чрезмерной альтерации клетки, *не требует затрат энергии* и не зависит от управляющих сигналов местного и центрального происхождения («анархических путь гибели»). Вследствие синтеза поврежденной клеткой БАВ (простогландины) и нарушения целостности ее мембран (выход различных ферментов), некроз представляет определенную угрозу окружающим структурам – это часто способствует развитию воспалительного процесса.

Насильственная гибель клетки обусловлена:

* лишением ее питания и кислорода;
* необратимыми изменениями структуры и функции с угнетением важнейших метаболических процессов различными патогенными агентами.

Некрозу предшествует глубокая, *частично необратимая* стадия повреждения клетки – ***некробиоз*** (рис. 1). Несмотря на многообразие этиологических факторов, провоцирующих в конечном счете развитие некробиоза и некроза, молекулярно-клеточные изменения, выявляемые при гибели клетки в большинстве случаев одинаковы (Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., 1999). Согласно их мнению, важно различать *гипоксический и свободно-радикальный некробиоз*. Механизмы свободно-радикального повреждения клетки (см. выше) могут запускаться без первичной гипоксии, а иногда даже в условиях его избытка. *Гипоксический некробиоз* (см. раздел «Гипоксия») инициируется различными патогенными факторами, вызывающих продолжительную гипоксию. Оба вида некробиоза могут комбинироваться и взаимно дополнять друг друга. Исходом обоих видов некробиоза являются такие повреждения клетки, при которых она уже неспособна к самостоятельному энергообеспечению (*т. необратимости*, рис. 1) и подвергается некрозу.

Некоторые исследователи иногда рассматривают некробиоз, как процесс собственной гибели клетки. По Давыдовскому И.В., некробиоз – это процесс отмирания клеток. Некроз же, в большей степени характеристика морфологическая, наблюдающаяся после гибели клетки, а не механизм самой гибели.

Различают две основные разновидности некроза:

* коагуляционный (сухой) некроз. При нем в клетке развивается значительный ацидоз, идет коагуляция белков и отмечается повышенное накопление кальция с агрегацией элементов цитоскелета. Очень часто наблюдается при тяжелой гипоксии, например, в кардиомиоцитах при инфаркте миокарда. Данный некроз преимущественно развивается в тканях богатых белком и кальцием и характеризуется ранними и глубокими поражениями митохондрий;
* колликвационный некроз. Для него типично преобладание гидролитических процессов лизосомального аутолиза или гетеролизиса при участии фагоцитов. Очаг некроза размягчен, наблюдается накопление активных гидроксильных радикалов и эндогенное омыление клеток, что приводит к разрушению ее структур, например различных мембран.

Между коагуляционным и колликвационным некрозоми четких границ нет. Возможно, это объясняется тем, что механизмы их развития во многом общие. Ряд исследователей выделяют и так называемый *казеозный (творожистый)* некроз (при туберкулезе), пологая при этом, что он представляет собой комбинацию двух предыдущих типов.

***Апоптоз – это программированная клеточная смерть (инициирующаяся под действием вне- или внутриклеточных факторов) в развитии которой активную роль принимают специальные и генетически запрограммированные внутриклеточные механизмы***. Он, в отличие от некроза активный процесс, требующий определенных *энергозатрат*. Первоначально пытались разграничить понятия «*программированная клеточная гибель*» и «*апоптоз*»: к первому термину относили устранение клеток в эмбриогенезе, а ко второму – программированную смерть только зрелых дифференцированных клеток. В настоящее время выяснилось, что никакой целесообразности в этом нет (механизмы развития клеточной гибели одинаковы) и два понятия превратились в синонимы, хотя это объединение и не бесспорно.

Прежде чем приступить к изложению материала о роли апоптоза для жизнедеятельности клетки (и организма) в норме и патологии, мы рассмотрим механизм апоптоза. Их реализацию можно представить в виде поэтапного развития следующих стадий:

***1 стадия*** – ***стадия инициации (индукции)***. В зависимости от происхождения сигнала, стимулирующего апоптоз, различают:

* *внутриклеточные стимулы апоптоза*. Среди них к наиболее известным относят – разные виды облучения, избыток Н+, оксид азота, свободные радикалы кислорода и липидов, гипертермия и др. Все они могут вызывать различные *повреждения хромосом* (разрывы ДНК, нарушения ее конформации др.) и *внутриклеточных мембран* (особенно митохондрий). То есть в данном случае поводом для апоптоза служит «неудовлетворительное состояние самой клетки» (Мушкамбиров Н.П., Кузнецов С.Л., 2003). Причем, повреждение структур клеток должно быть достаточно сильным, но не разрушительным. У клетки должны сохраниться энергетические и материальные ресурсы для активации генов апоптоза и его эффекторных механизмов. Внутриклеточный путь стимуляции программированной смерти клетки можно обозначить как «*апоптоз изнутри*»;
* *трансмембранные стимулы апоптоза*, т.е., в этом случае он активируется внешней «сигнализацией», которая передается через мембранные или (реже) внутриклеточные рецепторы. Клетка может быть вполне жизнеспособной, но, с позиции целостного организма или «ошибочной» стимуляции апоптоза, она должна погибнуть. Этот вариант апоптоза получил название «*апоптоз по команде*».

Трансмембранные стимулы подразделяются на:

* «*отрицательные*» сигналы. Для нормальной жизнедеятельности клетки, регуляции ее деления и размножения необходимо воздействие на нее через рецепторы различных БАВ: факторов роста, цитокинов, гормонов. Среди прочих эффектов, они подавляют механизмы клеточной гибели. И естественно, дефицит или отсутствие данных БАВ активирует механизмы программированной смерти клетки;
* «*положительные*» сигналы. Сигнальные молекулы, такие как ФНОα, глюкокортикоиды, некоторые антигены, адгезивные белки и др., после взаимодействия с клеточными рецепторами могут запускать программу апоптоза.

На клеточных мембранах находится группа рецепторов, в задачу которых передача сигнала к развитию апоптоза является основной, возможно даже единственной функцией. Это, например, белки группы DR (death receptos – «*рецепторы смерти*»): DR3, DR4, DR5. Наиболее хорошо изучен Fas-рецептор, появляющийся на поверхности клеток (гепатоцитах) спонтанно или под влиянием активации (зрелые лимфоциты). Fas-рецептор при взаимодействии с Fas-рецептором (лигандом) Т-киллера запускает программу смерти клетки мишени. Однако, взаимодействие Fas-рецептора с Fas-лигандом в областях, изолированных от иммунной системы, заканчивается гибелью самого Т-киллера (см. нижеигандом в областях, изолированных от иммунной системы, заканчивается гибелью самого Т-киллера.

Следует помнить, что некоторые сигнальные молекулы апоптоза, в зависимости от ситуации могут наоборот, блокировать развитие программированной смерти клеток. *Амбивалентность* (двойственное проявление противоположных качеств) характерна для ФНО, ИЛ-2, интерферона γ и др.

На мембранах эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, а так же клеток легкого и кожи обнаружены особые *антигены-маркеры*. На них синтезируются физиологические *аутоантитела*, и они, выполняя роль *опсонинов*, способствуют фагоцитозу этих клеток, т.е. гибель клеток происходит путем *аутофагоцитоза*. Выяснилось, что антигены-маркеры появляются на поверхности «старых» (прошедших свой путь онтогенетического развития) и поврежденных клетках, молодые и неповрежденные клетки их не имеют. Данные антигены получили название «антигены-маркеры стареющих и поврежденных клеток» или «белок третьей полосы». Появление белка третьей полосы контролируется геномом клетки. *Следовательно, аутофагоцитоз можно рассматривать, как вариант запрограммированной гибели клеток*.

* *Смешанные* сигналы. Это сочетанное воздействие сигналов первой и второй группы. Например, апоптоз происходит с лимфоцитами, активированных митогоном (положительный сигнал), но не вступивших в контакт с АГ (отрицательный сигнал).

***2 стадия*** – ***стадия программирования*** (контроля и интеграции механизмов апоптоза).

Для этой стадии характерно два, диаметрально противоположных процесса, наблюдающихся после инициации. Происходит либо:

* реализация пускового сигнала к апоптозу через активацию его программы (эффекторами являются каспазы и эндонуклеазы);
* блокируется эффект пускового сигнала апоптоза.

Различают два основных, но не исключающих друг друга, варианта исполнения стадии программирования (рис. 14):



Рис. 14. Каспазный каскад и его мишени

R– мембранный рецептор; К – каспазы;AIF– митохондриальная протеаза; Цит. С – цитохром с;Apaf-1 – цитоплазматический белок;IAPs– ингибиторы каспаз

1. Прямая передача сигнала (прямой путь активации эффекторных механизмов апоптоза минуя геном клетки) реализуется через:

* адапторные белки. Например, так осуществляется запуск апоптоза Т-киллером. Он активирует каспазу-8 (адапторный белок). Аналогично может действовать и ФНО;
* цитохром С и протеазу ΑIF (митохондриальная протеаза). Они выходят из поврежденной митохондрии и активируют каспазу-9;
* гранзимы. Т-киллеры синтезируют белок перфорин, который образует каналы в плазмолемме клетки-мишени. Через эти каналы в клетку проникают протеолитические ферменты *гранзимы*, выделяемые все тем же Т-киллером и они запускают каскад каспазной сети.

2. Опосредованная передача сигнала. Она реализуется с помощью генома клетки путем:

* репрессии генов, контролирующих синтез белков-ингибиторов апоптоза (гены Bcl-2, Bcl-XL и др). Белки Bcl-2 в нормальных клетках входят в состав мембраны митохондрий и закрывают каналы по которым из этих органоидов выходят цитохром С и протеаза AIF;
* экспрессии, активации генов, контролирующих синтез белков-активаторов апоптоза (гены Bax, Bad, Bak, Rb, P53 и др.). Они, в свою очередь активируют каспазы (к-8, к-9).

На рис. 14 представлена примерная схема каспазного принципа активации каспаз. Видно, что откуда бы не запускался каскад, его узловым моментом является каспаза 3. Она активируется и каспазой 8 и 9. Всего в семействе каспаз – более 10 ферментов. Локализуются в цитоплазме клетки в неактивном состоянии (прокаспазы). Положение всех каспаз в данном каскаде до конца не выяснено, поэтому на схеме ряд из них отсутствует. Как только активируются каспазы 3,7,6 (возможно и их другие типы) наступает 3 стадия апоптоза.

***3 стадия*** – ***стадия реализация программы*** (исполнительная, эффекторная). Непосредственными исполнителями («палачами» клетки) являются выше указанные каспазы и эндонуклеазы. Местом приложения их действия (протеолиза) служат (рис. 14):

* цитоплазматические белки – белки цитоскелета (фодрин и актин). Гидролизом фодрина объясняют изменение поверхности клетки – «гофрирование» плазмолеммы (появление на ней впячиваний и выступов);
* белки некоторых цитоплазматических регуляторных ферментов: фосфолипазы А2, протеинкиназы С и др.;
* ядерные белки. Протеолиз ядерных белков занимает основное место в развитии апоптоза. Разрушаются структурные белки, белки ферментов репликации и репарации (ДНК-протеинкиназы и др.), регуляторные белки (рRb и др.), белки-ингибиторов эндонуклеаз.

Иннактивация последней группы – *белков ингибиторов эндонуклеаз приводит к активации эндонуклеаз, второму «****орудию****» апоптоза*. В настоящее время эндонуклеазы и в частности, *Са2+, Мg2+ -зависимая эндонуклеаза*, рассматривается как центральный фермент программируемой смерти клетки. Она расщепляет ДНК не в случайных местах, а только в линкерных участках (соединительные участки между нуклеосомами). Поэтому хроматин не лизируется, а только фрагментируется, что определяет отличительную, структурную черту апоптоза.

Вследствие разрушения белка и хроматина в клетке формируются и от нее отпочковываются различные фрагменты – апоптозные тельца. В них находятся остатки цитоплазмы, органелл, хроматина и др.

***4 стадия*** – ***стадия*** ***удаления апоптозных телец*** (фрагментов клетки). На поверхности апоптозных телец экспрессируются лиганды, они распознаются рецепторами фагоцитов. Процесс обнаружения, поглощения и метаболизирования фрагментов погибшей клетки происходит сравнительно быстро. Это способствует избежать попадания содержания погибшей клетки в окружающую среду и тем самым, как отмечено выше, воспалительный процесс не развивается. Клетка уходит из жизни «спокойно», не беспокоя «соседей» («тихий суицид»).

Программированная клеточная гибель имеет важное значение для многих ***физиологических процессов***. С апоптозом связаны:

* *поддержание нормальных процессов морфогенеза* – запрограммированная смерть клеток в процессе эмбриогенеза (имплантации, органогенеза) и метаморфоза;
* *поддержание клеточного гомеостаза* (в том числе ликвидация клеток с генетическими нарушениями и инфицированных вирусами). Апоптозом объясняется физиологическая инволюция и уравновешивание митозов в зрелых тканях и органах. Например, гибель клеток в активно пролиферирующих и самообновляющихся популяциях – эпителиоцитов кишечника, зрелых лейкоцитов, эритроцитов. Гормонально-зависимая инволюция – гибель эндометрия в конце менструального цикла;
* *селекция разновидностей клеток внутри популяции.* Например, формирование антигенспецифической составляющей иммунной системы и управление реализацией ее эффекторных механизмов. С помощью апоптоза происходит выбраковка ненужных и опасных для организма клонов лимфоцитов (аутоагрессивных). Сравнительно недавно (Griffith T.S., 1997) показали значение программированной гибели клеток в защите «иммунологически привилегированных» зон (внутренние среды глаза и семенников). При прохождении гисто-гематических барьеров данных зон (что случается редко), эффекторные Т-лимфоциты гибнут (см. выше). Включение механизмов их смерти обеспечивается при взаимодействии Fas-лиганда барьерных клеток с Fas-рецепторами Т-лимфоцита, тем самым предотвращается развитие аутоагрессии.

Роль апоптоза ***в патологии*** и виды различных заболеваний связанных с нарушением апоптоза представлены в виде схемы (рис. 15) и таблицы 1.

Конечно, значение апоптоза в патологии меньше чем некроза (возможно, это связано с недостаточностью таких знаний). Однако, проблема его в патологии имеет и несколько иной характер: она оценивается по степени выраженности апоптоза - усиление или ослабление при тех или иных болезнях.

**Апоптоз**

https://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-DN_GWV.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-EM_E7Q.pngУчастие апоптоза в формировании типовых патологических процессах

Изменение выраженности

апоптоза

https://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-JNakG8.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-3npvVV.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-0v9NNy.pngГибель

лимфоцитов и энтероцитов при стрессе

*Ослабление*

*Усиление*

https://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-hr4b7D.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-1guYog.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-AT8lUK.pngВрожденные

дефекты тканей, уродства, гибель плода

Повышение вероятности развития злокачественных

опухолей

Гибель клеток при септическом шоке

https://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-Bm20UG.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-MVDeRL.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-RGUnL2.pngЛокальная гибель клеток при реоксигенации после ишемии

Панцитопении, первичные иммунодефициты

Сочетание волчаночного и лимфопролиферативного синдрома

https://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-5M3Hpz.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-2jzsGE.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-1J2tbu.pngНейродегенеративные процессы

Повреждение

клеток

Т-киллеров при

аутоиммцнных процессах

https://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-E1Jixq.pngВирусные

инфекции, в том числе СПИД

Бактериальные инфекции (эффект суперантигенов)

https://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-uouHF9.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-1anhsa.pnghttps://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-ZXyiHQ.pngЗамедление

гибели клеток-эффекторов в позднюю фазу немедленной аллергии

Действие неблагоприятных факторов среды, цитотоксической терапии

https://studfile.net/html/16316/374/html_G9c_xHhMPS.Fshz/img-ETPSzy.pngРис. 15. Роль апоптоза в патологии

Таблица 1

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Группа  заболеваний | Заболевания | Комментарии |
| *Заболевания, связанные с ослаблением апоптоза* | | |
| Аутоиммунные  процессы  Злокачественные опухоли | Семейный аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, связанный с дефицитом Fas  Системная красная волчанка, ревматоидный артрит, синдром Бехчета  Лимфома Беркита  Лейкозы и солидные опухоли | Аналоги у мышей – носители мутации генов lpr, gld и трансфектанты по гену bcl-2. СКВ-подобный синдром в сочетании с накоплением клетокCD3+CD4-CD8-B220+  Ослабление апоптоза невыясненного генеза. Образование растворимого Fas-рецептора  Транслокация и гиперэкспрессия генов bcl-2 иc-myc; ослабление апоптоза  Мутация и экспрессия гена р53 приводят к ослаблению апоптоза, что часто коррелирует с прогрессированием и их устойчивостью к терапии |
| ***Заболевания, связанные с усилением апоптоза*** | | |
| Врожденные аномалии  Болезни крови (цитопении)  Инфекционные (бактериальные заболевания)  Вирусные инфекции  Дистрофические заболевания нервной системы  Другие заболевания | Синдрома Дауна и др.  Миелодисплазии, апластическая, Fе-, фолат, В12-дефицитные анемии, тромбоцитопения, нейтропения, болезнь Кастлемана  Различные инфекционные процессы, сепсис  Различные вирусные заболевания, в том числе СПИД  Боковой амиотрофический склероз, болезнь Альцгеймера, спинальная мышечная атрофия  Инфаркт миокарда  Токсические гепатиты | Преобладание апоптоза при формировании локальных структур  Усиление апоптоза клеток отдельных или всех ростков кроветворения в процессе развития  Апоптоз клеток иммунной системы вызывают суперантигены, токсины; при сепсисе – накапливающийся в крови ФНОα  Индукторами апоптоза при СПИДе служат вирусные факторы, в частности gр120, взаимодействующий с CD4  Усиление апоптоза нейронов и других клеток в определенных участках центральной нервной системы  Преобладание апоптоза миоцитов в период «репефузии» миокарда  Апоптоз гепатоцитов под действием ядов, в том числе этанола |

*Усиление апоптоза* характеризуется развитием патологии, затрагивающей в основном определенные типы клеток с уменьшением их численности (СПИД, тромбоцитопения, болезнь Альцгеймера и др.). *Недостаточность механизмов* программированной гибели клеток лежит в основе заболеваний, в развитии которых решающим является проявление активности клеток, в норме подлежащих ограничению или даже полной ликвидации (аутоиммунные процессы, доброкачественные и злокачественные опухоли). Данные изменения механизмов апоптоза, естественно нужно учитывать при разработке патогенетической терапии.

В последнее время, область фармакологии, посвященная разработке лекарственных препаратов по регулированию и коррекции механизмов программированной клеточной гибели, успешно формируется. Сейчас наши знания по механизмам апоптоза значительно расширились и появилась уверенность, что успехи фармакологии апоптоза получат широкое внедрение в практическую медицину.

**Контрольные вопросы:**

* 1. Охарактеризуйте причины, вызывающие некроз клеток и тканей.
  2. Дайте определение «некробиоза» и причины его вызывающие.
  3. Охарактеризуйте различные виды некроза.
  4. Охарактеризуйте апоптоз и его механизмы.
  5. Дайте характеристику стадиям апоптоза.
  6. При каких болезнях имеет место ослабление или усиление апоптоза.
  7. Охарактеризуйте молекулярно-морфологические различия апоптоза и некроза.

**Рекомендуемая литература**

1. Сахаров А.В., Макеев А.А. Патология клетки. Учебное пособие.-Новосибирск: Изд. ФГБОУ ВПО «НГПУ», 2013.-104 с.
2. Струков А.И., Серов В.В. Патологическая анатомия. Учебник 6-е издание, под ред. Паукова В.С..- Москва, Изд. «ГЭОТАР –Медиа» , 2019. 860 с.
3. [В. А. Черешнев Б. Г. Юшков. Патофизиология. –М.:Академия, 2001](https://scicenter.online/fiziologiya-patologicheskaya-scicenter/patofiziologiya.html).- 314 с.
4. Общая патология: учебное пособие для мед. вузов//под ред. Н.П.Чесноковой.- М.:Академия, 2006.-336 с.
5. Пальцев М.А. Руководство к практическим занятиям по патологической анатомии.- М.: Медицина, 2002.- 896с.