

БИОХИМИЯ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ (АПОПТОЗА) У ЖИВОТНЫХ

В. Д. САМУИЛОВ

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

BIOCHEMISTRY OF PROGRAMMED CELL DEATH (APOPTOSIS) IN ANIMALS

V. D. SAMUILOV

The execution of the program of cell development and differentiation, the immune responses to pathogen introduction, the maintenance of tissue homeostasis in animals, are all connected with the programmed cell death (PCD). The phenomenology and mechanisms of the PCD are considered. The receptors of plasmatic membrane, mitochondria and endoplasmic reticulum are very important for the PCD.

Реализация программы развития и клеточной дифференцировки, иммунные реакции на внедрение патогена, поддержание тканевого гомеостаза у животных связаны с программируемой клеточной смертью (ПКС). Рассмотрены феноменология и механизмы ПКС. Важную роль в ПКС выполняют рецепторы плазматической мембраны, митохондрии, эндоплазматический ретикулум.

www.issep.rssi.ru

У многоклеточных организмов генетически заложена программа гибели клеток (апоптоза). Элементы программируемой клеточной смерти (ПКС) свойственны и миру микроорганизмов. Задача настоящей работы – кратко рассмотреть сведения о том, как реализуется программа клеточной смерти у животных, на которых достигнут наибольший прогресс в исследовании проблемы.

АПОПТОЗ И НЕКРОЗ – ДВА ВАРИАНТА КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ

Существуют два возможных варианта гибели клеток у животных: апоптоз и некроз. Картина апоптоза у животных (рис. 1) – это уменьшение объема клетки,

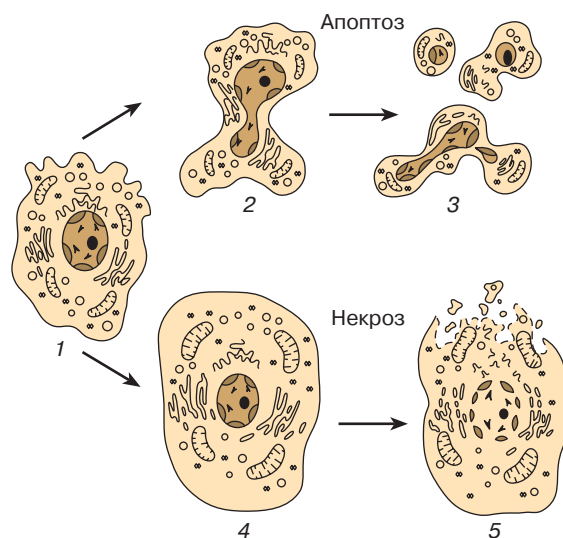


Рис. 1. Изменение ультраструктуры клеток животных при некрозе и апоптозе: 1 – нормальная клетка, 2 – апоптотное сморщивание клетки с образованием пузырчатых выростов, 3 – фрагментация клетки с образованием апоптотных везикул, 4 – набухание клетки при некрозе, 5 – некротическая дезинтеграция (по: Male D., Cooke A., Owen M. et al. Advanced Immunology. Mosby, L., 1996)

сморщивание цитоплазматической мембраны, конденсация ядра, разрывы нити ДНК и последующий распад ядра на части, фрагментация клетки на мембранные везикулы с внутриклеточным содержимым (апоптозные тельца), фагоцитируемые макрофагами и клетками-соседями. В нормальных клетках фосфолипиды распределены асимметрично между внутренним и наружным монослоями цитоплазматической мембраны: аминофосфолипиды (фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин) отсутствуют в наружном монослое. Асимметрия поддерживается особым АТФ-зависимым ферментом, переносящим аминофосфолипиды снаружи внутрь. Апоптоз нарушает асимметрию мембраны, на ее наружной поверхности появляются аминофосфолипиды, и клетки-фагоциты узнают апоптозные клетки и апоптозные везикулы с помощью специальных рецепторов, взаимодействующих с наружным фосфатидилсерином.

Фагоцитоз – активный захват, поглощение и переваривание микробных клеток, вторгшихся в многоклеточный организм, специализированными клетками – фагоцитами. У млекопитающих существуют “профессиональные” фагоциты двух классов: нейтрофилы (микрофаги) и макрофаги, открытые И.И. Мечниковым. Они относятся к лейкоцитам и имеют общее происхождение из стволовой клетки-предшественницы. Макрофаги помимо микробных клеток фагоцитируют также изношенные и поврежденные клетки макроорганизма и их фрагменты. Наряду с нейтрофилами и макрофагами фагоцитоз осуществляют клетки ретикулярной ткани (входящие в состав миндалин, слизистой оболочки кишечника, зубной мякоти), эндотелия кровеносных сосудов, клетки плаценты, эпителия глаза.

Некроз – непрограммируемая, патологическая форма клеточной смерти, характеризуется разрывом цитоплазматической и внутриклеточных мембран (рис. 1). Это приводит к разрушению органелл, высвобождению лизосомальных ферментов и выходу цитоплазмы в межклеточное пространство. Некроз могут вызвать физические и химические повреждения (механическая травма, обморожение, ожог, недостаток кислорода, отравление). Некротическую гибель клетки могут вызвать вирусы или иные паразиты, когда иммунная система организма своевременно не распорядилась судьбой инфицированной клетки, настроив ее на путь апоптоза. Новое поколение паразитов устремляется в соседние клетки, нанося все больший и больший ущерб организму. Начинается воспалительный процесс, исходом которого может быть как выздоровление, так и гибель организма.

Признаки воспаления сформулировал еще Цельс (25 г. до н.э. – 45 г. н.э.) – это “*tumor, tumor, calor et dolor*” (покраснение, опухание, жар и боль), что в конеч-

ном итоге по Вирхову может привести к “*functio laesa*” (нарушению функции) и даже гибели организма. Элементы разрушительного характера являются атрибутом воспалительной реакции. Наличие или отсутствие воспаления у животных и человека используется как признак, позволяющий отличить апоптоз от некроза.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АПОПТОЗА

Апоптоз – многоэтапный процесс. Начальный этап – прием сигнала, предвестника гибели в виде информации, поступающей в клетку извне или возникающей в недрах самой клетки (рис. 2). Сигнал воспринимается рецептором, подвергается анализу и далее передается молекулам-посредникам. В конечном итоге происходит активация особых ферментов, называемых каспазами. Наряду с апоптозными имеются каспазы, которые активируют цитокины, участвующие в воспалительных процессах, – низкомолекулярные белки, посредники межклеточных взаимодействий (интерлейкины, γ -интерферон).

Каспазы

Каспазы относятся к семейству эволюционно консервативных протеаз – ферментов, катализирующих ограниченное расщепление клеточных белков. Известны 14 членов семейства: каспаза-1, каспаза-2, каспаза-3 и т.д. В активном центре фермента – остаток цистеина.

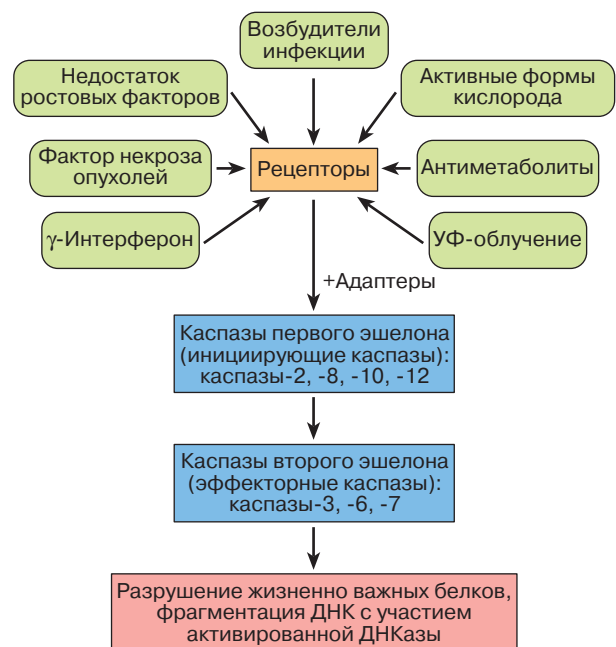


Рис. 2. Схематическая модель программируемой клеточной смерти у животных и человека

Все они являются аспазимами: специфически узнают определенные тетрапептидные звенья белков и расщепляют пептидную связь по карбоксильному концу остатка аспарагиновой кислоты. Каспаза (от англ. *caspase*), где буква *c* соответствует цистеину (*cysteine*), корень *asp* — аспартату (*aspartate*), *ase* — суффиксу в названиях ферментов. В клетке каспазы синтезируются в форме латентных предшественников — проферментов, называемых прокаспазимами.

По субстратной специфичности различают иницирующие и эффекторные каспазы или соответственно каспазы первого и второго эшелона. Активация иницирующих прокаспаз происходит при участии специальных белков-адаптеров (см. рис. 2). На этапе активации каспаз первого эшелона жизнь клетки еще можно сохранить. Существуют регуляторы, которые блокируют или, напротив, усиливают разрушительное действие каспаз первого эшелона. К ним относятся антиапоптотические белки семейства Bcl-2 и проапоптотические белки семейства Bax.

Субстраты каспаз первого эшелона (к ним относятся каспазы-2, -8, -9, -10 и -12) — латентные формы каспаз второго эшелона — прокаспазы-3, -6, и -7. Свыше 60 различных белков являются субстратами эффекторных каспаз. По функциональной принадлежности они разделяются на несколько групп:

- подвергается протеолизу ингибитор ДНКазы, ответственной за фрагментацию ДНК. В нормальных клетках апоптотическая ДНКаза CAD (*caspase-activated DNase* — ДНКаза, активируемая каспазой) образует неактивный комплекс с ингибитором CAD, обозначаемым I^{CAD} или DFF (*DNA fragmentation factor* — фактор фрагментации ДНК). При апоптозе ингибитор I^{CAD} с участием каспаз-3 или -7 инактивируется и свободная CAD, вызывая межнуклеосомальные разрывы хроматина, ведет к образованию фрагментов ДНК с молекулярной массой, кратной молекулярной массе ДНК в нуклеосомных частицах, — 180–200 пар нуклеотидов. Эти фрагменты при электрофоретическом разделении в агарозном геле дают характерную лесенку ДНК. Апоптоз возможен и без фрагментации ДНК;

- происходят инактивация и нарушение регуляции белков, участвующих в репарации ДНК, сплайсинге мРНК, репликации ДНК. Мишенью каспаз является поли(АДФ-рибозо)полимераза (ПАРП). Этот фермент участвует в репарации ДНК, катализируя поли(АДФ-рибозилирование)гистонов и других белков, связанных с ДНК. Донором АДФ-рибозы является NAD⁺ (молекула NAD⁺ построена следующим образом: никотинамид—рибоза—фосфат—фосфат—рибоза—аденин, при отщеплении никотинамида образуется АДФ-рибоза). Активность ПАРП возрастает в 500 раз и более при связывании с участками разрыва ДНК. Апоптотическая гибель

клетки сопровождается расщеплением ПАРП каспазами. Чрезмерная активация ПАРП при массивных разрывах ДНК, сильно снижая содержание внутриклеточного NAD⁺, ведет к подавлению гликолиза и митохондриального дыхания и вызывает гибель клетки по варианту некроза;

- разрушаются белки цитоскелета: ламины (структурные белки, выстилающие изнутри поверхность внутренней ядерной мембраны), актин, фодрин, кератины, а также фермент гельдолин, катализирующий деполимеризацию актина;

- модифицируются белки — регуляторы клеточного деления. Активируются циклинзависимые киназы, разрушаются белки (p21 и p27), подавляющие активность этих киназ;

- разрушаются антиапоптотические белки семейства Bcl-2, проапоптотический белок Bid, белки IAP (см. ниже);

- модифицируются белки, участвующие в межклеточной сигнализации, ядерные факторы транскрипции.

Наибольшей активностью в расщеплении этих белков обладает каспаза-3: считают, что после ее активации клетка необратимо теряет пути к выживанию.

Структурно прокаспаза (молекулярная масса до 50 кДа) состоит из трех звеньев: N-концевого звена (продомена), промежуточного домена, предшественника большой субъединицы (~20 кДа) и C-концевого домена, предшественника малой субъединицы (~10 кДа) зрелого фермента (рис. 3). Продомены иницирующих (а также воспалительных) прокаспаз содержат свыше 100 аминокислотных остатков. Они выполняют важную функцию в активации фермента: осуществляют взаимодействие прокаспаз с белками-адаптерами. В этих белок-белковых взаимодействиях участвуют специализированные участки продоменов, у разных прокаспаз это DED (*death effector domain* — домен эффектора смерти), CARD (*caspase recruitment domain* — домен рекрутирования каспазы), DID (*death inducing domain* — домен, вызывающий смерть). Так, у прокаспазы-9 это CARD, а у прокаспазы-8 два последовательно соединенных DED. Такие же домены имеются у адаптерных молекул, что позволяет реализовать междоменное, так называемое гомофильное взаимодействие между прокаспазой и адаптером — CARD—CARD, DED—DED.

Продомены эффекторных прокаспаз короче, чем у иницирующих прокаспаз, содержат менее 30 аминокислотных остатков и выполняют функцию ингибитора активации прокаспаз. Выявлены белки (их обозначают IAP), которые, блокируя отщепление продомена эффекторных прокаспаз и тем самым подавляя их активацию, предотвращают апоптоз.

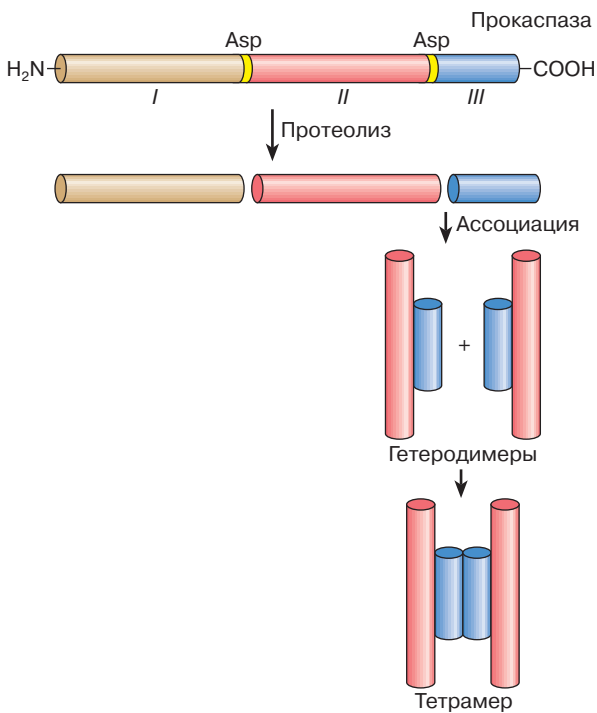


Рис. 3. Активация прокаспаз путем протеолитического расщепления на субъединицы и их последующей ассоциации: *I* – продомен, *II* – промежуточный домен, предшественник большой субъединицы, *III* – С-концевой домен, предшественник малой субъединицы каспазы

Активация каспазы заключается в протеолитическом удалении продомена, разрыве связи между большой и малой субъединицами и последующей сборке из них гетеродимера. Два гетеродимера, связываясь друг с другом через малые субъединицы, образуют тетрамер – активную форму каспазы, обладающую двумя идентичными каталитическими центрами (см. рис. 3).

Пути передачи сигнала апоптоза

Апоптоз, включаемый рецепторами плазматической мембраны. Этот тип ПКС, играющий решающую роль в регуляции иммунного ответа, зависит от действия специальных рецепторов смерти, объединенных в группу рецепторов фактора некроза опухолей (ФНО), – Fas (обозначаемый также CD95 или APO-1).

Fas – белок, пронизывающий плазматическую мембрану (рис. 4), он экспрессируется в тканях различных органов: в тимусе, печени, сердце, почках. Его лиганд, FasL, преимущественно экспрессируется цитотоксическими Т-лимфоцитами (Т-киллерами) и натуральными киллерами (НК-клетками). Эти две популяции клеток отличаются друг от друга. Т-киллеры,

прежде чем стать убийцами инфицированных клеток, должны пройти предварительную подготовку, быть активированы антигеном, им необходимо пройти дифференцировку. Натуральные киллеры убивают клетку-мишень без предварительной подготовки.

Через механизм Fas-зависимого апоптоза цитотоксические Т-лимфоциты расправляются с клетками, инфицированными вирусами или бактериями, а натуральные киллеры – с опухолевыми клетками. В то же время Fas-зависимый апоптоз регулирует гомеостаз (равновесие) лимфоцитов, вызывая гибель активированных Т-лимфоцитов-продуцентов цитокинов и В-лимфоцитов – продуцентов антител по окончании иммунного ответа, когда повержен инфекционный возбудитель, внедрившийся в организм.

Воспалительные реакции могут вызвать неспецифические повреждения ткани. Большинство органов устойчиво к воспалительным реакциям, за исключением глаз и мужских половых желез. Поэтому эти органы в иммунологическом отношении находятся в привилегированном положении. Клетки эпителия и эндотелия роговицы, радужной оболочки, ресничные клетки глаз, фолликулярные клетки (клетки Сертоли) семенников конститутивно экспрессируют FasL. Если активированные воспалительные клетки (Т-лимфоциты и нейтрофилы) проникают в эти иммунопривилегированные органы, они немедленно атакуются FasL: взаимодействуя с Fas-рецептором воспалительных клеток, FasL вызывает гибель этих клеток в результате апоптоза и тем самым предотвращает воспалительный процесс.

Сходным образом некоторые опухолевые клетки тоже экспрессируют FasL, что позволяет им производить контратаку на цитотоксические Т-лимфоциты и НК-клетки, вызывая их апоптоз, связываясь с Fas-рецептором на поверхности этих клеток.

Апоптоз, включаемый митохондриальными белками.

Митохондрии – органеллы, осуществляющие энергообеспечение эукариотных клеток – животных, а также и растений в ночные часы. По своему строению митохондрии подобны грам-отрицательным бактериям. Митопласт, в котором расположены ферменты цикла лимонной кислоты и β -окисления жирных кислот, окружен мембраной, в которую вмонтированы компоненты дыхательной цепи переноса электронов, фермент АТФ-синтаза и белки – переносчики веществ через мембрану. Кроме мембраны митопласта, называемой внутренней мембраной митохондрий, имеется наружная мембрана, пронизанная порами, пропускающими соединения с молекулярной массой до 0,5 кДа. Пространство между наружной и внутренней мембранами (у грам-отрицательных бактерий это пространство называется периплазмой) является местом локализации некоторых белков, в том числе цитохрома *c* –

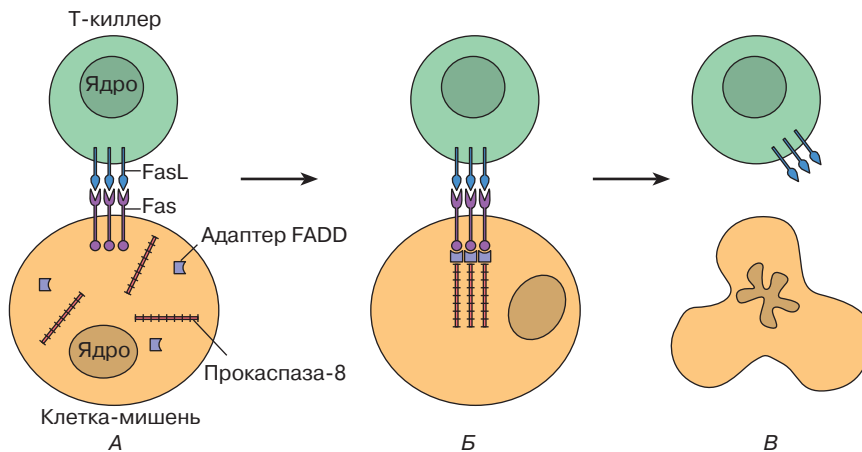


Рис. 4. Зависимый от Fas-рецептора апоптоз клетки-мишени при действии цитотоксического Т-лимфоцита (Т-киллера). В плазматической мембране киллера молекулы FasL находятся в форме тримеров (А). Тримеры FasL связываются с молекулами Fas-рецептора клетки-мишени. Затем молекулы Fas связывают цитоплазматический адаптерный белок FADD (Fas-associated death domain – связанный с Fas домен смерти) – (Б). Адаптер FADD содержит домен DED, который взаимодействует с DED-доменами продомена прокаспазы-8. Формируются агрегаты FasL-Fas-FADD-прокаспаса-8 – сигнальные комплексы, индуцирующие смерть (death-inducing signaling complex – DISC). Будучи в свободной, мономерной форме, прокаспазы, концентрация которых в клетке ничтожна, находятся в латентном состоянии, хотя и обладают незначительной протеолитической активностью, составляющей 1–2% активности зрелой каспазы. При концентрировании на сигнальных комплексах DISC прокаспазы активируются через механизм протеолитического само- и перекрестного расщепления (ауто- и транс-процессинга). Происходит самоактивация молекул каспазы, образуется каспаза-8. Каспаза-8 активирует каспазу второго эшелона (эффекторную каспазу): из прокаспазы-3 образуется каспаза-3, после чего процесс, запущенный программой смерти, становится необратимым. Каспаза-3 активирует другие протеазы семейства каспаз, инактивирует фактор фрагментации ДНК, ведет к необратимому распаду ДНК на нуклеосомальные фрагменты, к распаду ядра и образованию апоптотических везикул (В)

низкомолекулярного компонента дыхательной цепи, который, будучи положительно заряженным белком, электростатически связывается с отрицательно заряженной поверхностью внутренней мембраны митохондрий.

Стрессорные воздействия, вызванные цитотоксическими соединениями, дефицитом ростовых факторов, активными формами кислорода, нарушением структуры ДНК, приводят к образованию гигантской поры в наружной мембране митохондрий. Ее диаметр ~3 нм позволяет пересекать мембрану веществам с молекулярной массой 1,5 кДа и ниже. Вследствие раскрытия гигантской поры митохондриальный матрикс набухает, наружная мембрана митохондрий разрывается, растворимые белки межмембранного пространства оказываются в цитоплазме. Среди этих белков несколько апоптотических факторов: цитохром *c*, прокаспазы-2, -3, -9, белок AIF (apoptosis inducing factor – фактор, вызывающий апоптоз). Прокаспаса-3 обнаруживается как в межмембранном пространстве митохондрий, так и в цитоплазме.

Высвобожденный цитохром *c* вместе с цитоплазматическим фактором APAF-1 (apoptosis protease activat-

ing factor-1 – фактор-1, активирующий апоптотическую протеазу) участвует в активации каспазы-9 (рис. 5). APAF-1 – белок с молекулярной массой 130 кДа, содержащий CARD-домен на N-конце и 12 повторяющихся WD-40-последовательностей (WD – дипептид из триптофана и аспартата, терминирующий последовательность из 40 аминокислотных остатков) на C-конце. WD-повторы свойственны белкам, участвующим в регуляции деления и дифференцировки эукариотных клеток, транскрипции генов, модификации мРНК, трансмембранной передачи сигналов. К наиболее охарактеризованным белкам относится β-субъединица G-белков. Из этих субъединиц собираются жесткие, симметричные структуры наподобие веера или пропеллера.

Другой белок межмембранного пространства митохондрий – AIF, представляющий собой флавопротеин и имеющий значительную гомологию с аскорбатредуктазами растений. Оказавшись в цитоплазме, AIF транслоцируется в клеточное ядро, где он активирует нуклеазу, разрывающую ядерную ДНК на крупные фрагменты длиной 50 тыс. пар нуклеотидов и более.

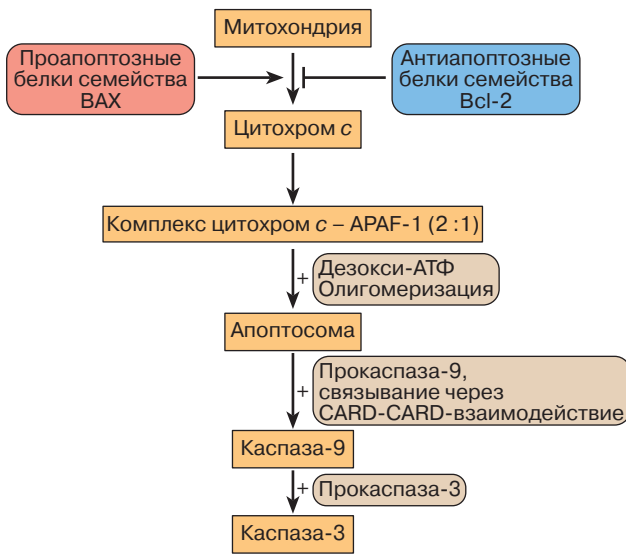


Рис. 5. Модель образования апоптосомы и активации прокаспазы-9. APAF-1 играет роль арматуры, на которой происходит активация каспазы-9. Он электростатически связывает две молекулы цитохрома с. Затем комплексы APAF-1 и цитохрома с при помощи механизма, зависящего от гидролиза дезокси-АТФ, олигомеризуются. Так образуется конструкция, называемая апоптосомой, в составе которой не менее 8 субъединиц APAF-1. Благодаря CARD-CARD-взаимодействию с APAF-1 в эквимольном соотношении связывается прокаспаса-9. Пространственное сближение молекул прокаспазы-9 на мультимерной арматуре из цитохром с-АПАФ-1-комплексов приводит к межмолекулярному протеолитическому процессингу прокаспазы-9 с образованием активной каспазы-9. Кроме того, прокаспаса-9, связавшись с апоптосомой, может принять конформацию, которая приводит к самоактивации в результате внутримолекулярного процессинга. Каспаза-9 затем расщепляет и активирует прокаспазу-3

Апоптоз, вызванный АИФ, происходит без участия каспаз.

Еще один проапоптозный белок митохондрий – SMAC (second mitochondrial apoptosis activating factor – второй митохондриальный фактор, активирующий апоптоз) вызывает активацию каспаз-3 и -9, связываясь с белками IAP (см. выше), снимая их ингибирующее действие на каспазы.

Апоптоз, зависящий от эндоплазматического ретикулума. В эндоплазматическом ретикулуме локализована прокаспаса-12, которая активируется при нарушении внутриклеточного Ca^{2+} -гомеостаза или накоплении избыточных количеств белка в эндоплазматическом ретикулуме. Каспаза-12 активирует каспазу-3, приводящую в исполнение программу гибели клетки. Обнаружена связь между апоптозом, зависящим от эндо-

плазматического ретикулума, и болезнью Альцгеймера, при которой разрушаются нервные клетки мозга. Субстратом каспазы-3 является белок β -амилоид, накапливающийся в нейронах. Каспаза-3 разрушает β -амилоид с образованием цитотоксичного амилоидного β -пептида, который по механизму обратной связи усиливает превращение прокаспазы-3 в каспазу-3 и тем самым ускоряет гибель нейрона.

Апоптоз, включаемый гранзимом В цитотоксических Т-лимфоцитов. Цитотоксические Т-лимфоциты могут вызвать апоптоз инфицированной клетки-мишени не только через механизм, зависящий от Fas-рецептора. Существует второй механизм – с помощью белка перфорина, впрыскиваемого Т-киллером в зону контакта с клеткой-мишенью. Полимеризуясь, перфорин образует в плазматической мембране клетки-мишени трансмембранные каналы, по которым внутрь клетки поступают гранзимы (фрагменты) – смесь протеолитических ферментов, выделенных Т-киллером. Существенным компонентом этой смеси является гранзим В – специфичная к остатку аспарагиновой кислоты сериновая протеаза (в активном центре остаток серина), превращающая прокаспазу-3 в каспазу-3. Причем в превращении прокаспазы-3 в каспазу-3 гранзим В обладает большей активностью, чем инициирующие каспазы-8 и -10 (соответственно в 2 и 7 раз).

Апоптоз, включаемый RGD-пептидами. Несколько каспаз, включая каспазу-3, содержат RGD (аргинин–глицин–аспартат)-последовательность вблизи активного центра фермента. В молекуле прокаспазы эта последовательность вовлечена во внутримолекулярное взаимодействие, придающее молекуле профермента такую конформацию, при которой протеазная активность не может проявиться. Предположительно RGD-последовательность взаимодействует с последовательностью DDM (аспартат–аспартат–метионин), локализованной вблизи участка протеолитической активации прокаспазы-3. Низкомолекулярный RGD-пептид, проникая в клетку и вступая в конкурентные взаимоотношения с RGD-последовательностью прокаспазы-3, вытесняет ее из сферы взаимодействия с DDM-последовательностью молекул профермента и индуцирует изменение их конформации, олигомеризацию и аутопроцессинг прокаспазы-3 с образованием активной каспазы-3.

Синтетические RGD-пептиды нашли клиническое применение как антитромботические лекарственные соединения и проходят испытание в качестве ингибиторов ангиогенеза (прокладки новых кровеносных сосудов), что открывает перспективы для лечения опухолевых больных.

Потеря клеточного ядра как особая форма апоптоза. Биогенез эритроцитов млекопитающих из стволовой клетки в костном мозге включает промежуточные

этапы. На этапе эритробласта ядро изгоняется (выталкивается) из клетки и пожирается макрофагом. Альтернативный вариант — кариорексис (деструкция ядра) с образованием телец Жолли и их последующий распад и лизис внутри клетки. Безъядерная клетка, называемая ретикулоцитом, в дальнейшем теряет митохондрии и рибосомы и превращается в эритроцит. Потерю ядра эритробластом можно рассматривать как особую форму ядерного апоптоза. Выяснение его механизма позволило бы применить его для обезвреживания опухолевых клеток. Эритроцит человека функционирует около четырех месяцев, а затем, поизносившись, исчезает в недрах ретикулоэндотелиальной системы, не причиняя неудобств окружающим клеткам.

С участием каспаз дифференцируются некоторые специализированные клетки организма. Так, эпителиальные клетки глазного хрусталика теряют ядро и другие органеллы, чтобы максимально увеличить пропускание света к сетчатке. Эти клетки генетически недееспособны, но метаболически активны, что свидетельствует о сохранении структурной и функциональной организации цитоплазмы. Кератиноциты эпидермиса кожи тоже лишены ядер и других органелл и образуют прочный и плотный слой мертвых клеток, заполненных белковым материалом.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ АПОПТОЗА

Физиологическая роль. Можно выделить три основные физиологические функции ПКС: 1) обеспечение программы индивидуального развития организма (онтогенеза) и дифференцировки клеток, 2) поддержание тканевого гомеостаза, 3) защиту от патогенов. В онтогенезе высших позвоночных животных ПКС проявляется в процессе их эмбрионального развития. Некоторые примеры: образование первичной полости в бластуле, гибель избыточных, неостребованных клеток при развитии периферической нервной системы, разделение пальцев в результате отмирания межпальцевых перепонки, ПКС при формировании пищеварительной системы, сердца, печени и других органов. У низших позвоночных — отмирание хвоста у головастика в процессе его превращения в лягушку, у беспозвоночных — метаморфоз насекомых. Пример клеточной дифференцировки с участием элементов ПКС — биогенез эритроцитов, клеток эпителия глазного хрусталика, кератиноцитов кожного эпидермиса.

В различных тканях существуют определенные нормы по количеству клеток. Если количество клеток будет выше или ниже нормы, это означает нарушение тканевого гомеостаза. Апоптоз функционирует как механизм, контролирующий количество и качество клеток, поддерживая тканевой гомеостаз в организме. Элиминируются ненормальные, функционально неак-

тивные клетки, в том числе клетки, функции которых нарушены под влиянием факторов абиотической природы (активные формы кислорода, антиметаболиты, УФ-облучение). Через апоптоз исчезают и функционально активные клетки: Т- и В-лимфоциты, активировавшиеся и размножившиеся в ответ на внедрение патогена, погибают по окончании инфекционного процесса (см. выше). Элиминируются клетки, представляющие потенциальную угрозу для организма: если нарушена ДНК, включается программа смерти с помощью различных механизмов, один из которых зависит от особого белка клетки — белка р53. ПКС, зависящая от р53, служит как противораковый механизм, не дает также размножаться клеткам с дефективной ДНК, предотвращая появление клеток-мутантов. Клетки ткани, вышедшие из сферы межклеточного взаимодействия, потерявшие контакт с другими клетками ткани и одиноко блуждающие по организму, тоже подвергаются апоптозу.

Вирусы, некоторые бактерии, грибы и простейшие являются внутриклеточными паразитами. Хотя специфичные к ним антитела вырабатываются организмом человека или животного, они не могут настичуть вредителя, затаившегося в цитоплазме, под покровом клеточной оболочки жертвы. И тогда в ход вступают цитотоксические Т-лимфоциты. Они убивают клетки, ставшие жертвами инфекционного возбудителя, и тем самым прекращают его дальнейшее размножение. Обладая аппаратом распознавания зараженной клетки среди массы здоровых клеток, Т-киллер вызывает ее гибель, включая программу самоубийства клетки-мишени. Натуральные киллеры через механизм апоптоза способны обезвредить опухолевые клетки.

Апоптоз и патологии. Отклонения ПКС от нормы — в сторону усиления или подавления — приводят к тяжелым заболеваниям, часто с летальным исходом. Нейродегенеративные заболевания (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона), ишемические повреждения (инсульт, инфаркт миокарда, послеоперационные реперфузионные осложнения, возникающие при остановке и последующем восстановлении кровотока в различных органах), некоторые болезни крови, цирроз печени, синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД), вызываемые патогенной бактерией *Helicobacter pylori*, гастрит и язва желудка — это заболевания, обусловленные усилением ПКС. Известны низкомолекулярные пептиды, которые эффективны как ингибиторы каспаз и перспективны как лекарственные соединения в терапии рассмотренных болезней.

Рак, некоторые аутоиммунные заболевания (красная волчанка) и вирусные инфекции (герпесные, аденовирусные), бронхиальная астма, шизофрения вызваны подавлением ПКС. Некоторые вирусы содержат

гены ингибиторов каспаз или гомологов апоптозного белка Bcl-2. Эти вирусы предотвращают апоптоз зараженной клетки: создаются условия для длительного поддержания инфекционного возбудителя в организме (персистенции). Подавлением апоптоза инфицированной клетки объясняется появление лекарственно устойчивых форм возбудителя туберкулеза.

α -Лактальбумин, содержащийся в человеческом молоке, в кислой среде меняет свою конформацию и, связывая олеиновую кислоту в качестве кофактора, превращается в белок, вызывающий апоптоз у опухолевых клеток, но не влияющий на жизнедеятельность нормальных клеток. Грудное вскармливание, как предполагают авторы работы (Svensson M. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Vol. 97. P. 4221–4226), защищает от рака и мать, и дитя.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Программируемая клеточная смерть — явление, широко распространенное в мире животных. В отличие от некроза ПКС не сопровождается воспалительными реакциями. Чаще реализуется с участием каспаз, но существуют пути, независимые от каспаз. В клетке каспазы синтезируются в неактивной форме, как проферменты. Имеются различные пути превращения прокаспаз в каспазы: зависимые от рецепторов плазматической мембраны, митохондриальных белков, эндоплазматического ретикулума и др. Апоптоз или его отдельные элементы выполняют важные физиологические функции. Это реализация программы индивидуального развития и дифференцировка некоторых специализированных клеток организма, поддержание клеточного

гомеостаза, вовлечение (наряду с фагоцитозом, Т- и В-клеточными компонентами иммунитета) в систему защиты организма от патогенов. ПКС — явление, жизненно необходимое для нормального функционирования организма. Отклонениями ПКС от нормы связаны тяжелые заболевания. Среди них нейродегенеративные заболевания, ишемии, СПИД, рак.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Абелев Г.И.* Воспаление // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 10. С. 28–32.
2. *Агол В.И.* Генетически запрограммированная смерть клетки // Там же. № 6. С. 20–24.
3. Программированная клеточная гибель / Под ред. В.С. Новикова. СПб.: Наука, 1996.
4. *Самуилов В.Д., Олескин А.В., Лагунова Е.М.* Программируемая клеточная смерть // Биохимия. 2000. Т. 65, № 8. С. 1029–1046.
5. *Скулачев В.П.* Кислород в живой клетке: Добро и зло // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 3. С. 4–10.
6. *Скулачев В.П.* Кислород и явления запрограммированной смерти // I Северинское чтение. М.: ИБМХ РАМН, 2000.
7. *Фрейдлин И.С.* От вирусов нас защищают клетки-убийцы // Соросовский Образовательный Журнал. 1997. № 6. С. 33–35.

Рецензент статьи О.Н. Кулаева

* * *

Виталий Дмитриевич Самуилов, доктор биологических наук, профессор кафедры клеточной физиологии и иммунологии МГУ. Область научных интересов – биоэнергетика, микробиология, биотехнология, иммунология. Автор более 200 статей, монографии и трех учебных пособий.