

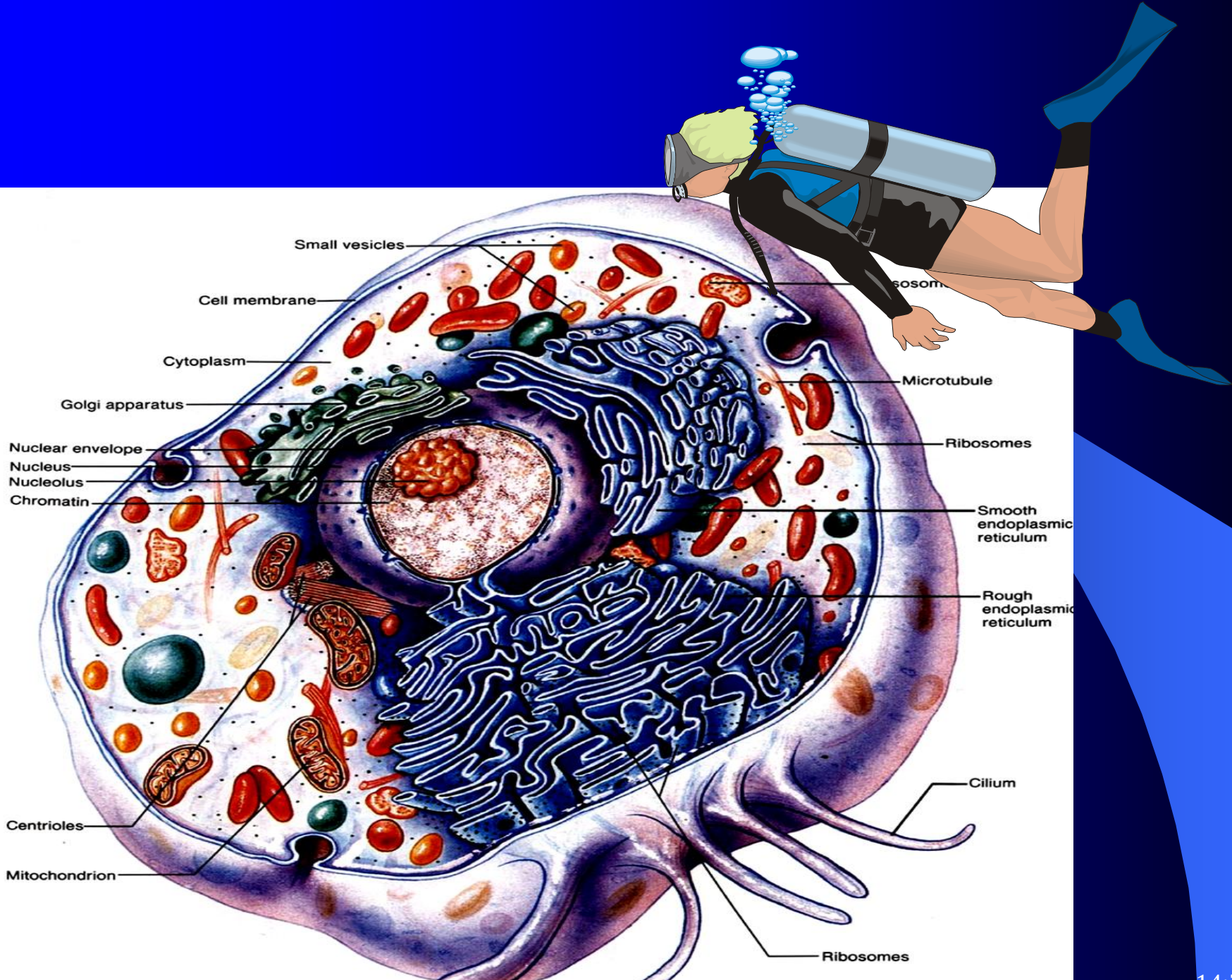
Механізми ушкодження клітин



КОСТЕНКО
ВІТАЛІЙ
ОЛЕКСАНДРОВИЧ,
доктор медичних наук,
професор

ПЛАН ЛЕКЦІЇ

1. Поняття про пошкодження клітини
2. Загальні механізми пошкодження клітини
3. Типові порушення субклітинних структур
4. Інформаційні аспекти порушення функції клітини (*розлади внутрішньоклітинних механізмів регуляції функції клітин*)
5. Механізми смерті клітин (*некроз, апоптоз*)



Small vesicles

Cell membrane

Cytoplasm

Golgi apparatus

Nuclear envelope

Nucleus

Nucleolus

Chromatin

Centrioles

Mitochondrion

Microtubule

Ribosomes

Smooth endoplasmic reticulum

Rough endoplasmic reticulum

Cilium

Ribosomes

ПОШКОДЖЕННЯ
(альтерація) клітини —
це типовий патологічний процес, основу
якого складають порушення
внутрішньоклітинного гомеостазу, що
призводять до розладу структурної
цілісності клітини та її функціональних
здатностей

ПОШКОДЖЕННЯ

- ❑ в залежності від швидкості розвитку та вираженості основних проявів: гостре та хронічне;
- ❑ в залежності від ступеня порушення внутрішньоклітинного гомеостазу: зворотнє і незворотнє;
- ❑ в залежності від ініціюючих патогенетичних механізмів: примусове — пов'язане з пошкодженням виконавчого клітинного апарату (включаючи матеріальний носій клітинних програм — ДНК) та дизрегуляторне — пов'язане з порушенням інформаційних процесів у клітині — сигналізації, рецепції, зв'язку тощо.

ЗАГАЛЬНІ МЕХАНІЗМИ ПОШКОДЖЕННЯ КЛІТИНИ

- ліпідні
- кальцієві
- електролітно-осмотичні
- ацидотичні
- протеїнові
- нуклеїнові

ЛІПІДНІ МЕХАНІЗМИ

- пероксидне окиснення ліпідів (*ПОЛ*)
- активація мембранних фосфоліпаз
- детергентна дія вільних жирних кислот

**Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) –
це вільнорадикальне окиснення
ненасичених жирних кислот, які входять до
складу фосфоліпідів клітинних мембран.**

В реакції пероксидації крім ліпідів можуть включатись сполуки різноманітного біохімічного складу: ***білки, вуглеводи, нуклеїнові кислоти.***

Проте головне значення мають **фосфоліпіди**. Це визначається тим, що вони є основним компонентом мембран і легко вступають в оксигеназні реакції.

Пероксидне окиснення ліпідів

```
graph TD; A[Пероксидне окиснення ліпідів] --> B[Ферментативне]; A --> C[Неферментативне];
```

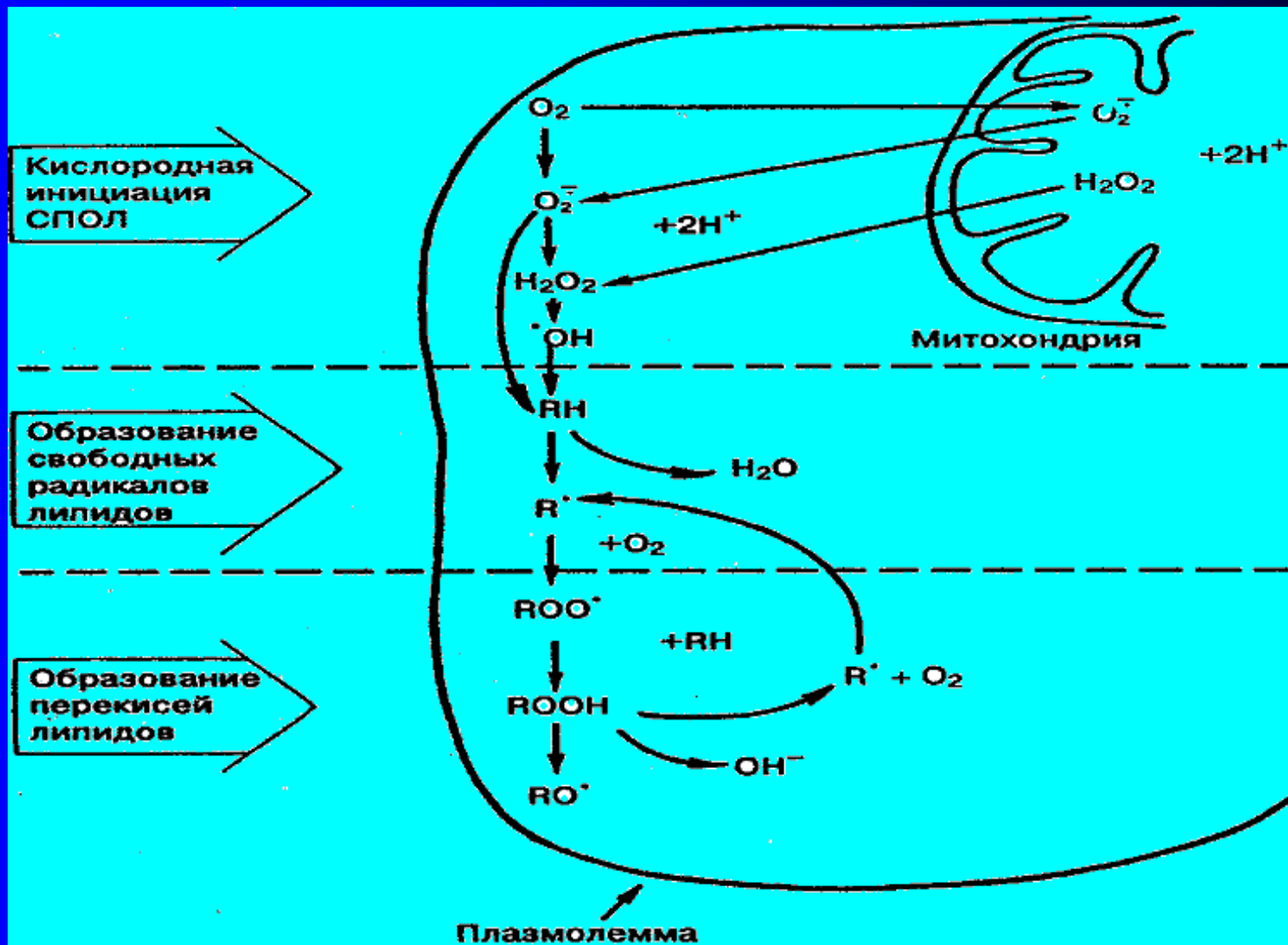
Ферментативне

- нормальний фізіологічний процес, що складає етап синтезу деяких метаболітів (простагландинів, лейкотрієнів, стероїдних гормонів)
- має досконалу регуляцію
- структурно впорядковане

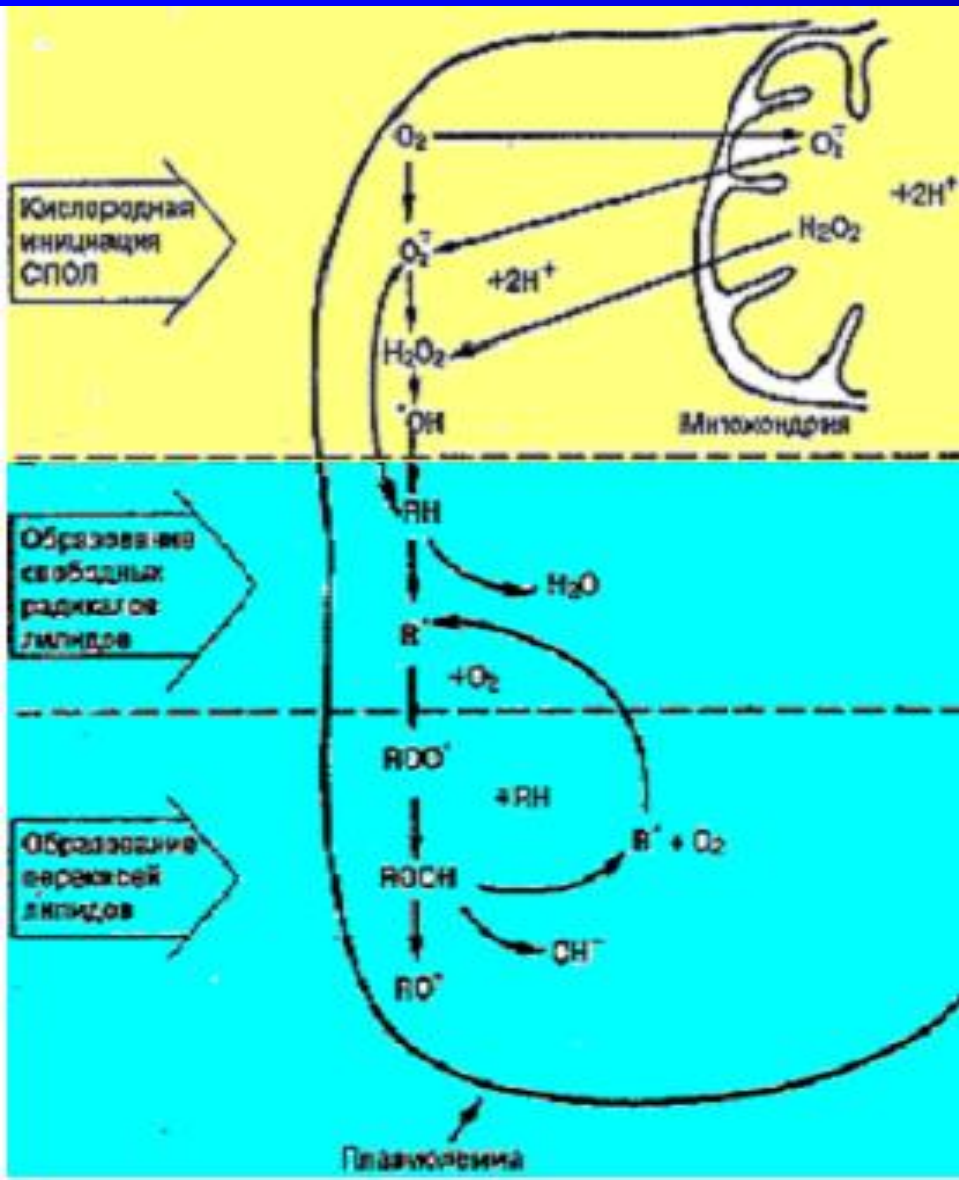
Неферментативне

- структурно невпорядковане, може виникати у будь-якому компартменті клітини
- має ланцюговий і розгалуджений характер
- продукти агресивні і дуже токсичні

Етапи неферментативного ПОЛ



I етап – КИСНЕВА ІНІЦІАЦІЯ

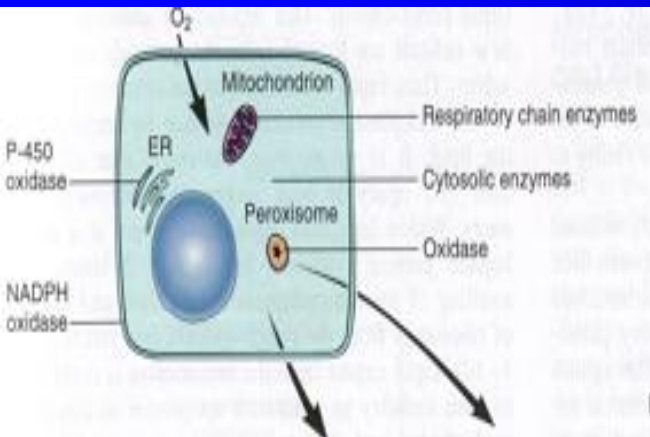


Ініціальна ланка —
утворення **активних
форм кисню (АФК):**

- супероксидного аніон-радикала
- синглетного кисню
- гідроксильного радикала
- пероксиду водню
- оксиду азота

ДЖЕРЕЛА АФК

супероксидний аніон-радикал



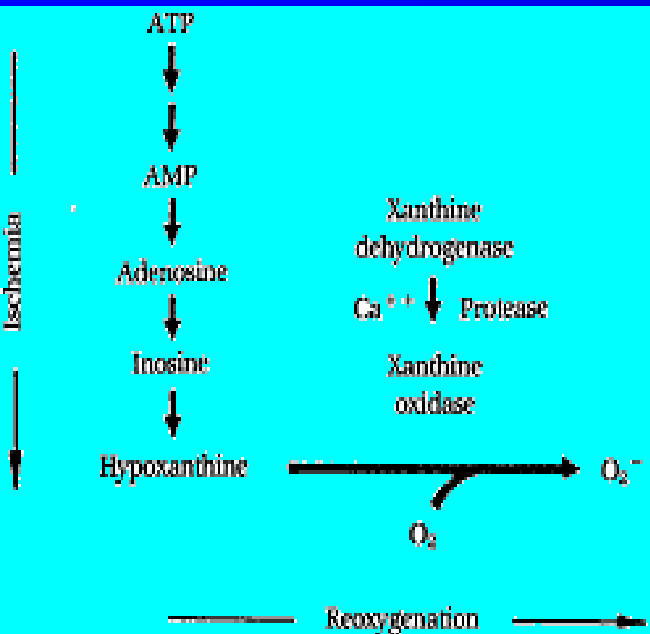
Мітохондріальна
цитохром-с-
оксидаза

НАДФН-
оксидаза
фагоцитів



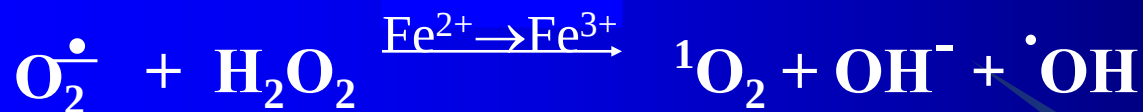
Ксантинооксидаза
(в ішемізованому міокарді
й інших органах)

Мікросомальні
МОНООКСИГЕНАЗИ



Синглетний кисень у клітинах утворюється:

1) в реакції Габера-Вейса



2) під час спонтанної дисмутації супероксиду



3) під час фотосенсибілізації

Гідроксильний радикал у клітинах утворюється:

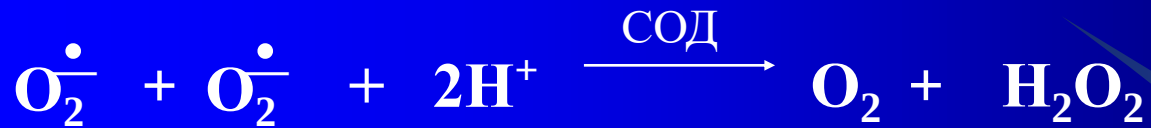
1) у реакції Габера-Вейса

2) під час радіолізу води



Пероксид водню у клітинах утворюється:

1) у супероксиддисмутазній реакції

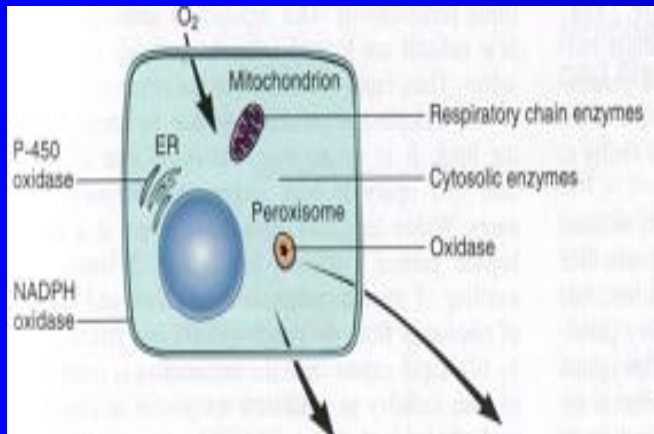


2) під час спонтанної дисмутації супероксиду



3) у системі ксантин-ксантинооксидаза

4) у реакції флавінових оксидаз



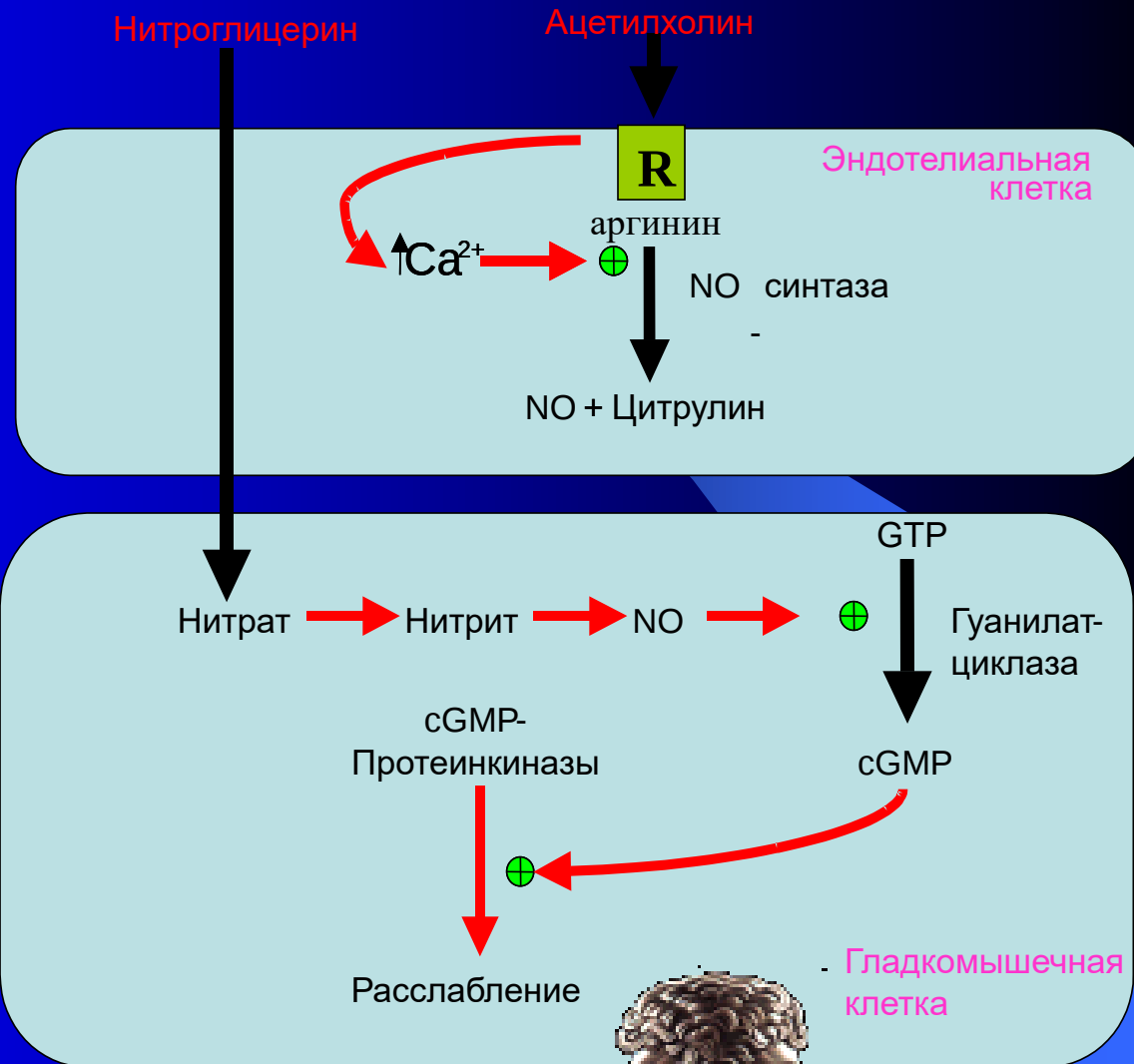
ДЖЕРЕЛА АФК оксид азоту (NO[•])

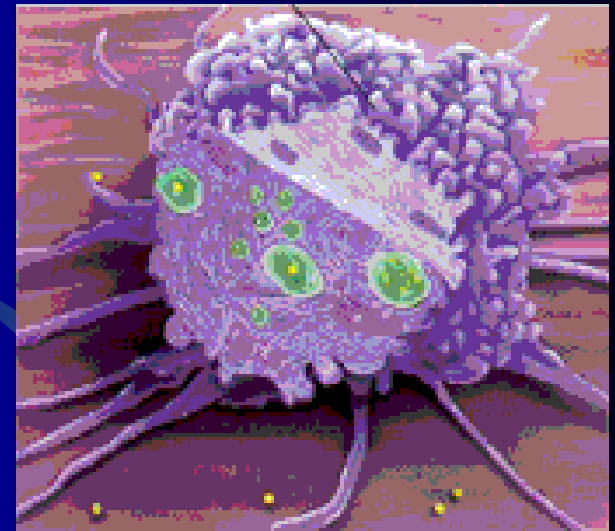
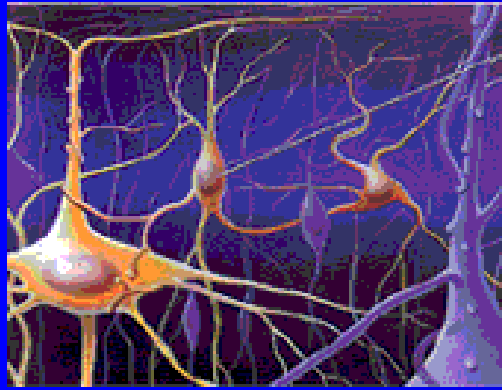
□ NO-синтазний шлях

- нейрональна NO-синтаза
- ендотеліальна NO-синтаза
- індукцибельна NO-синтаза

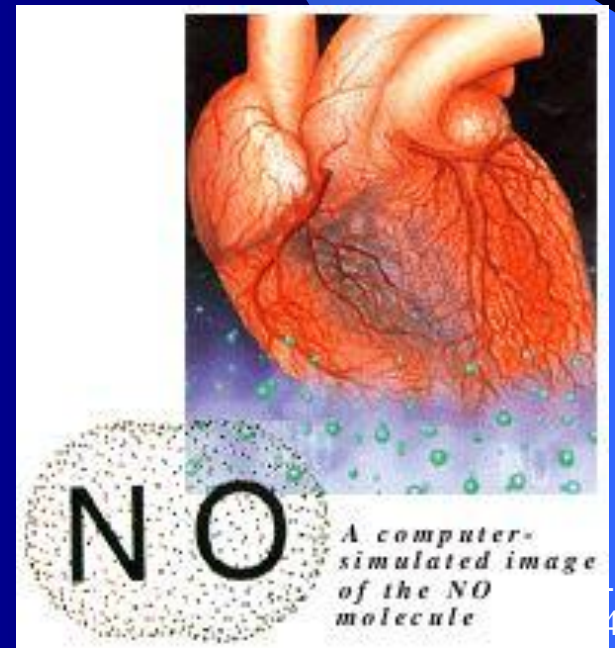
□ нітритредуктазний шлях (при взаємодії нітрит-іонів)

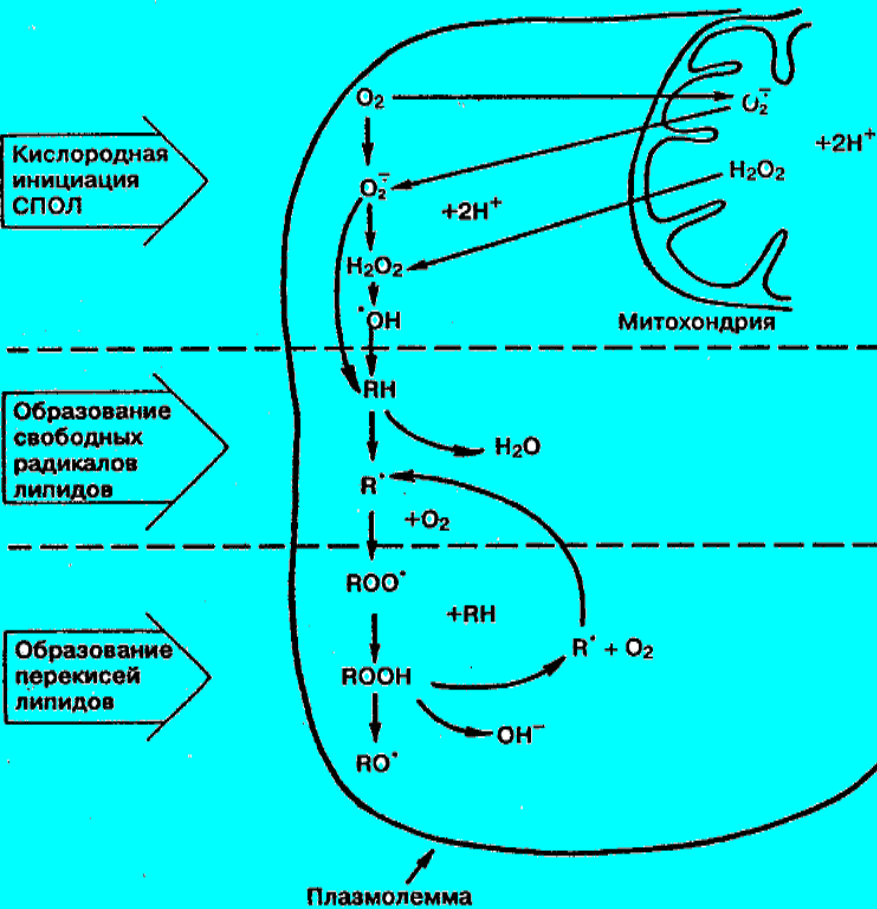
- з дезоксигемоглобіном
- з міоглобіном
- з цитохромами





NO





- **Ланцюговий характер** – під час реакцій ПОЛ не виникає знищення вільних радикалів і у процес включаються все нові й нові молекули ненасичених жирних кислот.
- **Розгалуджений характер** – у наростаючій кількості з'являються вільні радикали, джерелом яких є самі проміжні продукти ПОЛ.

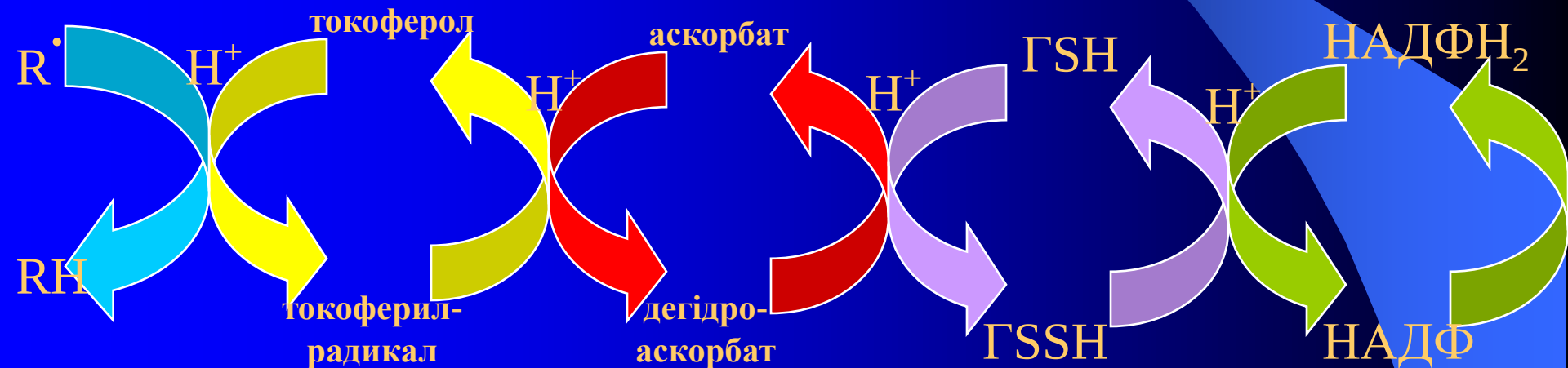
Антиоксидантною називається
система, що забезпечує
інактивацію вільних радикалів,
обмеження та гальмування ПОЛ

ЛАНКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ

Ланки АО системи	Фактори	Механізми дії
I. «Анти-кисневе»	Ретинол, каротиноїди, рибофлавін	Зменшення вмісту O ₂ у клітині, наприклад, шляхом активації його утилізації, підвищення сполучення процесів окислення і фосфорилювання
II. «Анти-радикальне»	Супероксиддисмутаза, токоферол	Трансформація активних радикалів в "нерадикальні" з'єднання, "гасіння" вільних радикалів органічними сполуками
III. «Анти-перекисне»	Глютатіон-пероксидази, каталаза	Інактивація гідроперекисів ліпідів, наприклад, при їхньому відновленні

КОМПОНЕНТИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ

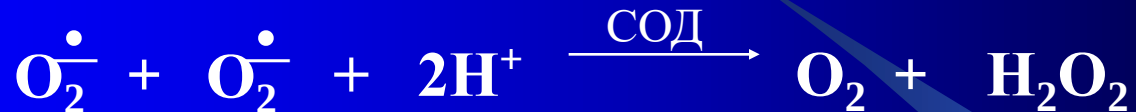
I. Антирадикальний ланцюг-переносник H^+ від систем біологічного ферментативного окиснення до «гасителів» вільних радикалів



ланцюг відновлюваних окисно-відновних (red-ox) станів глутатіону, аскорбату і α -токоферолу

II. Антиоксидантні ферменти

1. Супероксиддисмутаза (Cu, Zn-вмісні)



2. Каталаза (містить Fe)



3. Ферменти глутатіонової системи:

Глутатіон-пероксидаза (в еритроцитах Se-вмісна)



Глутатіон-редуктаза



АКТИВАЦІЯ ПОЛ

□ при надмірному утворенні первинних вільних радикалів (ультрафіолетове та іонізуюче випромінювання, гіпероксія, отруєння чотирьоххлористим вуглецем, гіпервітаміноз D тощо)

□ при порушенні функціонування анти-оксидантних систем (недостатність ферментів: супероксиддисмутази, каталази, глутатіон-пероксидази, глутатіон-редуктази; дефіцит міді, заліза, селену; гіповітамінози E, C; порушення пентозного циклу)

Зрив системи антиоксидантного захисту призводить до розвитку **синдрому пероксидації**. Він включає:

- пошкодження бар'єрної та матричної функцій клітинних мембран
- інгібування багатьох ферментів
- порушення клітинного ділення
- накопичення інертних продуктів пероксидної денатурації ліпідів і білків (ліпофусцин та ін.)

Продукти ПОЛ

```
graph TD; A[Продукти ПОЛ] --> B[Первинні]; A --> C[Вторинні]; A --> D[Кінцеві]; B --> E[дієнові кон'югати]; C --> F[малоновий диальдегід]; D --> G[шифрові основи, етан, пентан];
```

Первинні

*дієнові
кон'югати*

Вторинні

*малоновий
диальдегід*

Кінцеві

*шифрові
основи, етан,
пентан*

МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕНЬ БАР'ЄРНИХ ФУНКЦІЙ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ПРИ АКТИВАЦІЇ ПОЛ

- ❑ **Іонофорний механізм**, зумовлений появою в клітині речовин, що володіють властивостями іонофорів, тобто сполук, здатних полегшити дифузію іонів через мембрану завдяки утворенню комплексів іону та іонофору, що проходять через її шари. В процесі активації ПОЛ серед проміжних продуктів його реакцій з'являються речовини-іонофори по відношенню до іонів кальцію та водню. В результаті цього підвищується проникність клітинних мембран до цих іонів.
- ❑ **Механізм електричного пробою**, пов'язаний з існуванням на багатьох мембранах (плазматичній, внутрішній мітохондріальній) різниці потенціалів. У результаті появи гідрофільних продуктів ПОЛ порушуються електроізолюючі властивості гідрофобного шару клітинних мембран, що призводить до електричного пробою мембрани, тобто до електромеханічного її розриву з утворенням нових трансмембранних каналів іонної провідності.

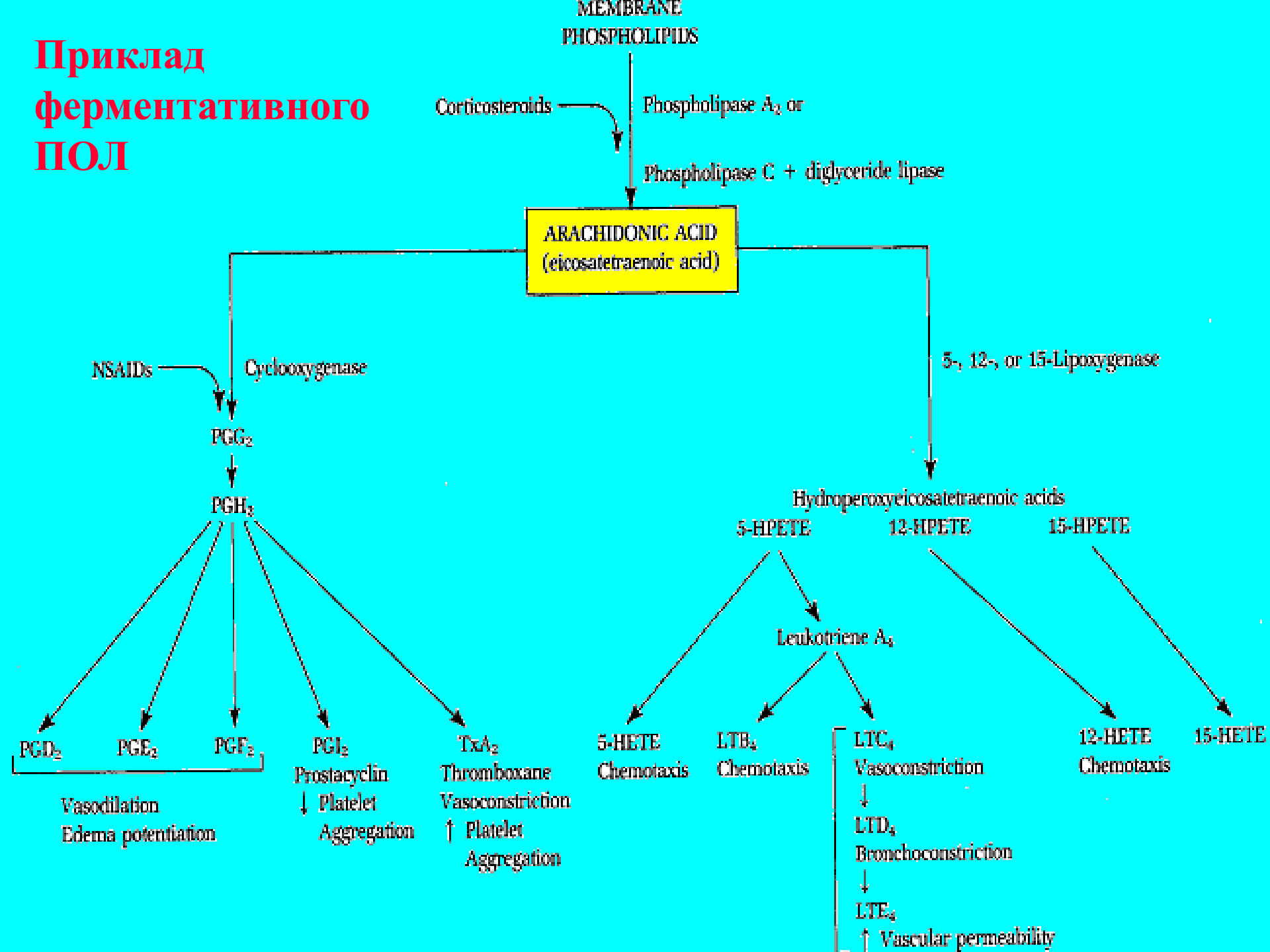
МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕНЬ МАТРИЧНОЇ ФУНКЦІЇ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ПРИ АКТИВАЦІЇ ПОЛ

Сутність *матричної функції ліпідного бішару мембран* полягає в тому, що в ньому «вмонтовані» мембранні ферменти та деякі спеціалізовані білки.

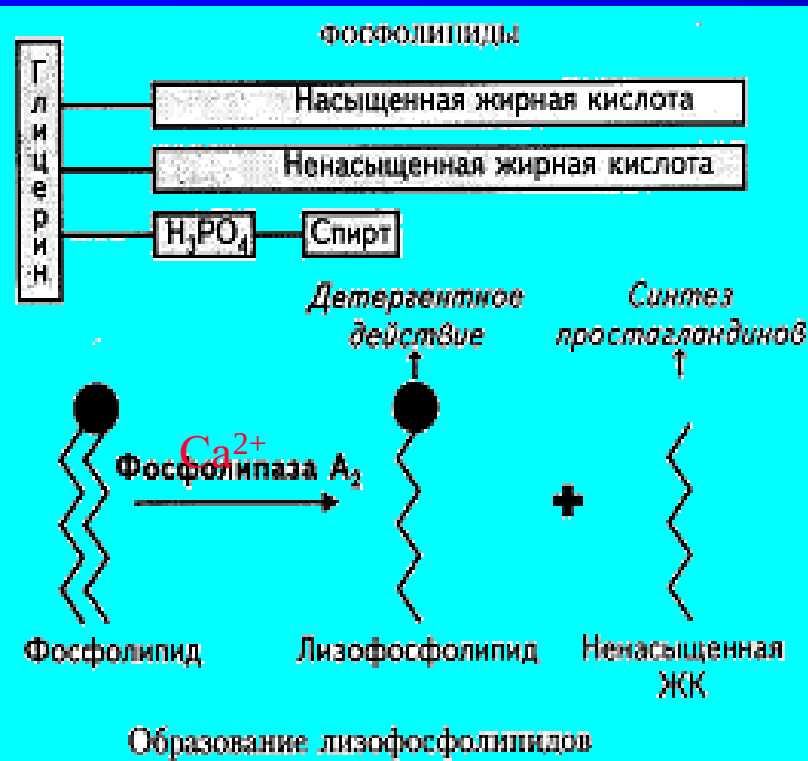
В процесі ПОЛ активність мембранних ферментів порушується внаслідок:

- зміни ліпідного мікрооточення, що в багатьох випадках визначає властивості білкових молекул;
- утворення «зшивок" між молекулами білків та фосфоліпідів;
- окислення SH-груп активних центрів, що призводить до незворотньої інактивації ферментів.

Приклад ферментативного ПОЛ

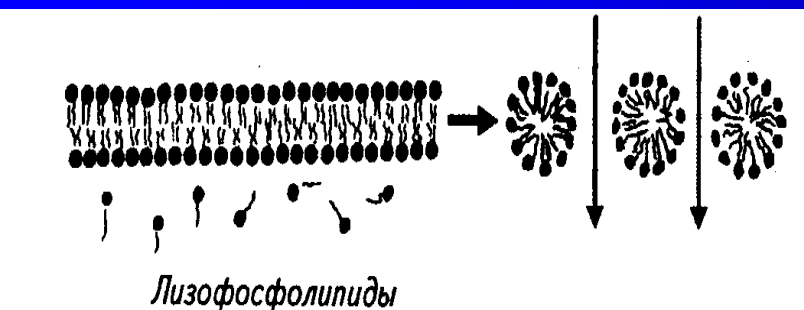


АКТИВАЦІЯ МЕМБРАННИХ ФОСФОЛІПАЗ



В патогенезі пошкодження клітини велике значення має надмірна активація *фосфоліпази A₂* — ферменту, який здійснює гідролітичне відщеплення ненасичених жирних кислот від молекул фосфоліпідів клітинних мембран.

В результаті цього утворюються *лізофосфоліпіди*, молекули яких мають лише один ліпіднокислотний "хвіст", у зв'язку з чим володіють здатністю до міцелоутворення та є дуже сильними детергентами.



ДЕТЕРГЕНТНА ДІЯ ВІЛЬНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ (ВЖК)

проявляється при збільшенні їх вмісту в клітині, що може бути обумовлено:

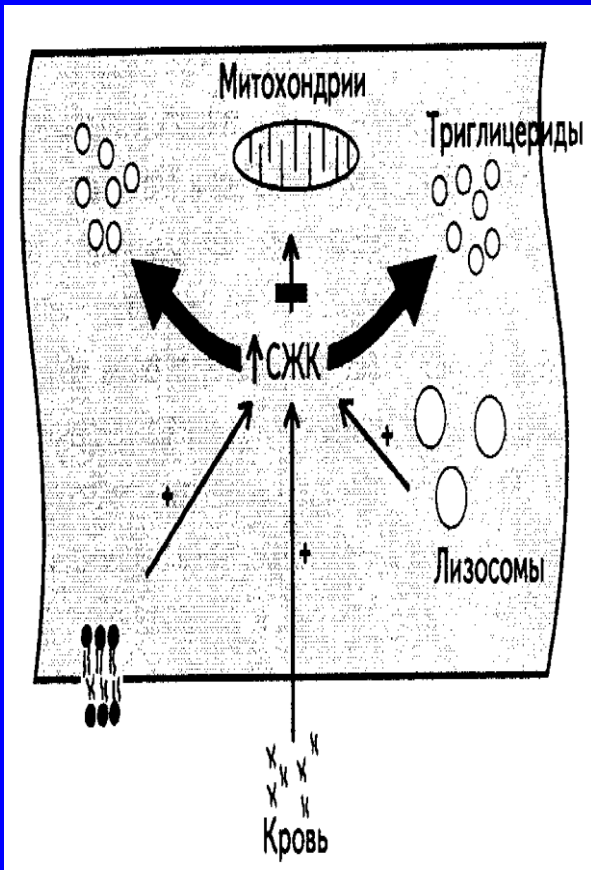
а) посиленням надходження ВЖК у клітину при гіперліпадемії (*наприклад, активація ліполізу в жировій тканині при стресі, цукровому діабеті*);

б) звільненням ВЖК у лізосомах із тригліцеридної частини ліпопротеїдів, що надійшли в клітину із плазми крові (*наприклад, гіперліпопротеїнемія при атеросклерозі*);

в) звільненням ВЖК із фосfolіпідів мембран під дією мембранних фосfolіпаз;

г) порушеннями використання ВЖК як джерела енергії (*зменшення активності ферментів β -окислення і циклу Кребса, наприклад, при гіпоксії*).

Для того, щоб запобігти ушкоджуючій дії надлишку жирних кислот, клітина має систему ферментів, які переводять ВЖК у форму тригліцеридів. При цьому спостерігається не властиве в нормі відкладання тригліцеридів у клітині у вигляді жирових крапель, тобто виникає жирова дистрофія клітини.



КАЛЬЦІЄВІ МЕХАНІЗМИ ПОШКОДЖЕННЯ КЛІТИНИ

обумовлені стійким підвищенням концентрації іонів Ca^{2+} в цитоплазмі клітини при:

- **надмірному надходженні іонів Ca^{2+} в цитоплазму** (гіперкальціємія, підвищення проникності плазматичної мембрани)
- **порушенні механізмів, що забезпечують видалення іонів Ca^{2+} з цитоплазми** (порушення Ca -насосів, Na - Ca -обмінного механізму, Ca -акумулюючої функції мітохондрій)

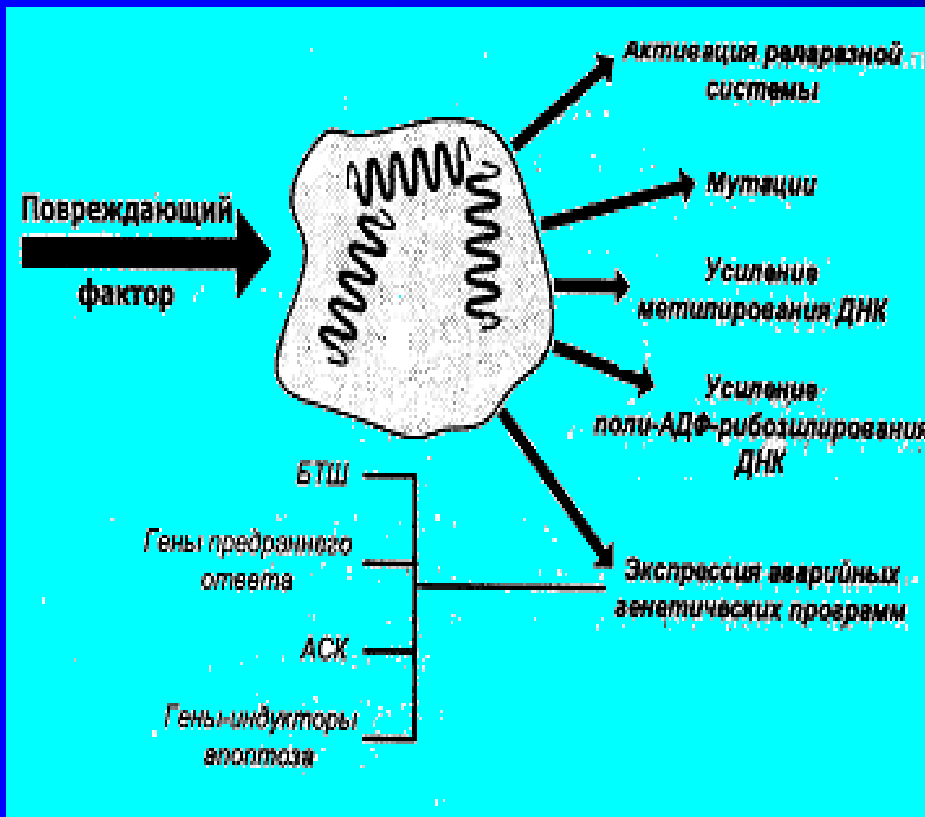
ПІДВИЩЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ІОНІВ Ca^{2+} В ЦИТОПЛАЗМІ

Це призводить до:

- контрактири фібрилярних структур клітини (міофібрил, елементів цитоскелету)
- активації фосфоліпази A_2
- роз'єднання процесів окислення і фосфорилування

ТИПОВІ ПОРУШЕННЯ СУБКЛІТИННИХ СТРУКТУР

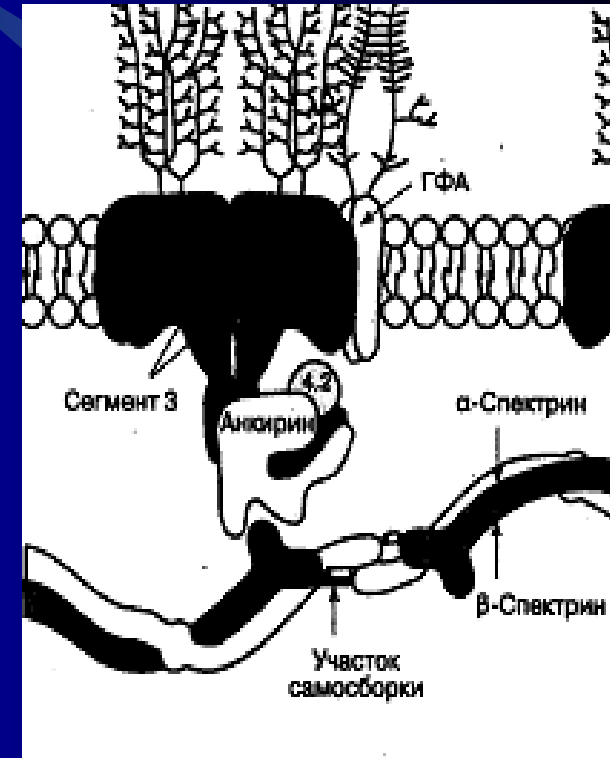
Типові наслідки пошкодження ядра клітини:



- активація системи репарації ДНК
- мутації
- посилення метилювання ДНК (блокування «неекстрених» діючих клітинних генетичних програм)
- посилення полі-АДФ-рибозилування ДНК (зшивка білків хроматину)
- експресія аварійних генетичних програм

До аварійних генетичних програм, які експресуються при ушкодженні ядра, відносяться:

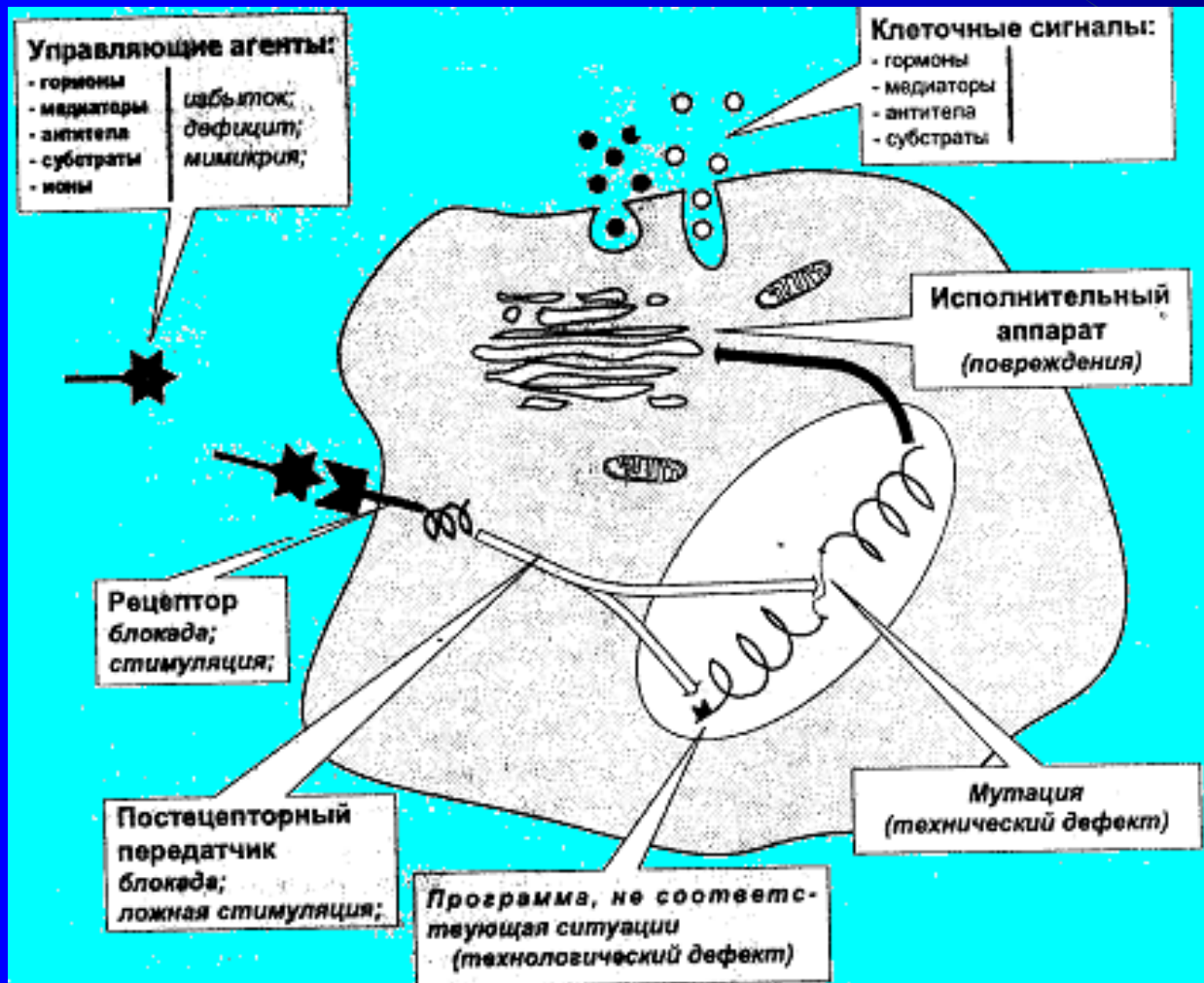
- **гени білків теплового шоку** (шаперонів, убіквітинів):
 - БТШ охороняють білки ядра і цитоплазми від агрегації та денатурації;
 - БТШ усувають денатуровані білки і запускають протеолітичні сигнальні системи в ушкодженій клітині
- **антионкогени** (ген Rb, ген білка p53)
 - сприяють сприйняттю ендогенних сигналів до розвитку апоптозу;
 - зупиняють мітотичний цикл у стадії G1
- **ген маркеру старіючих і ушкоджених клітин** (індукує знищення ушкодженої клітини шляхом залучення фагоцитів)
- **негайні гени передранньої відповіді** (c-fos, c-jun, c-myc, p17) – активують клітинну проліферацію
- **гени-регулятори апоптозу**



Білок III полоси (сегмент 3) - антиген старіючих клітин у мембрані еритроцитів

ДИЗРЕГУЛЯТОРНІ ПОРУШЕННЯ ФУНКЦІЇ КЛІТИН

(РОЗЛАДИ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИХ МЕХАНІЗМІВ РЕГУЛЯЦІЇ)

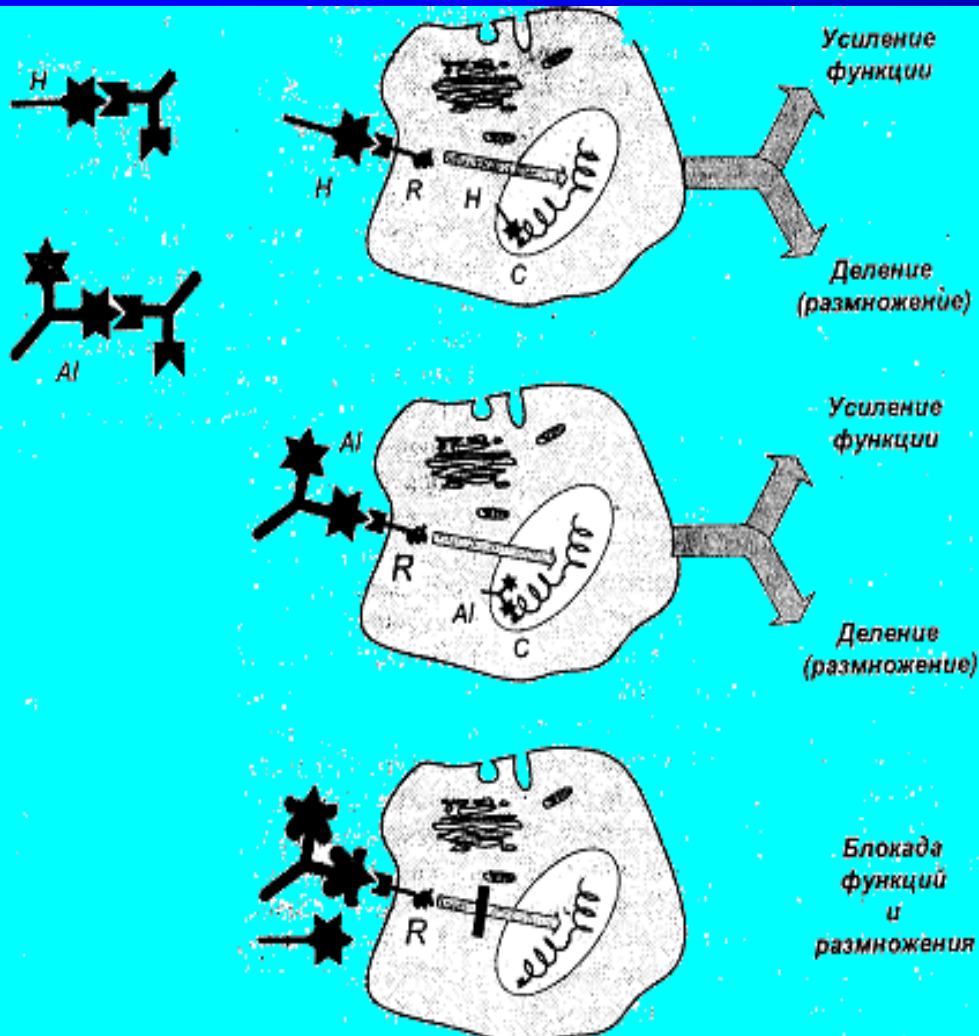


пов'язані з
невідповідністю
адаптаційної
програми ситуації,
що призводить до
вторинної альтерації
(самопошкодженню)
клітини

I. Порушення сигналізації

- недостатність або надлишок керуючих агентів;
- молекулярна мімікрія

В яких випадках можна говорити про феномен «молекулярна мімікрія»?

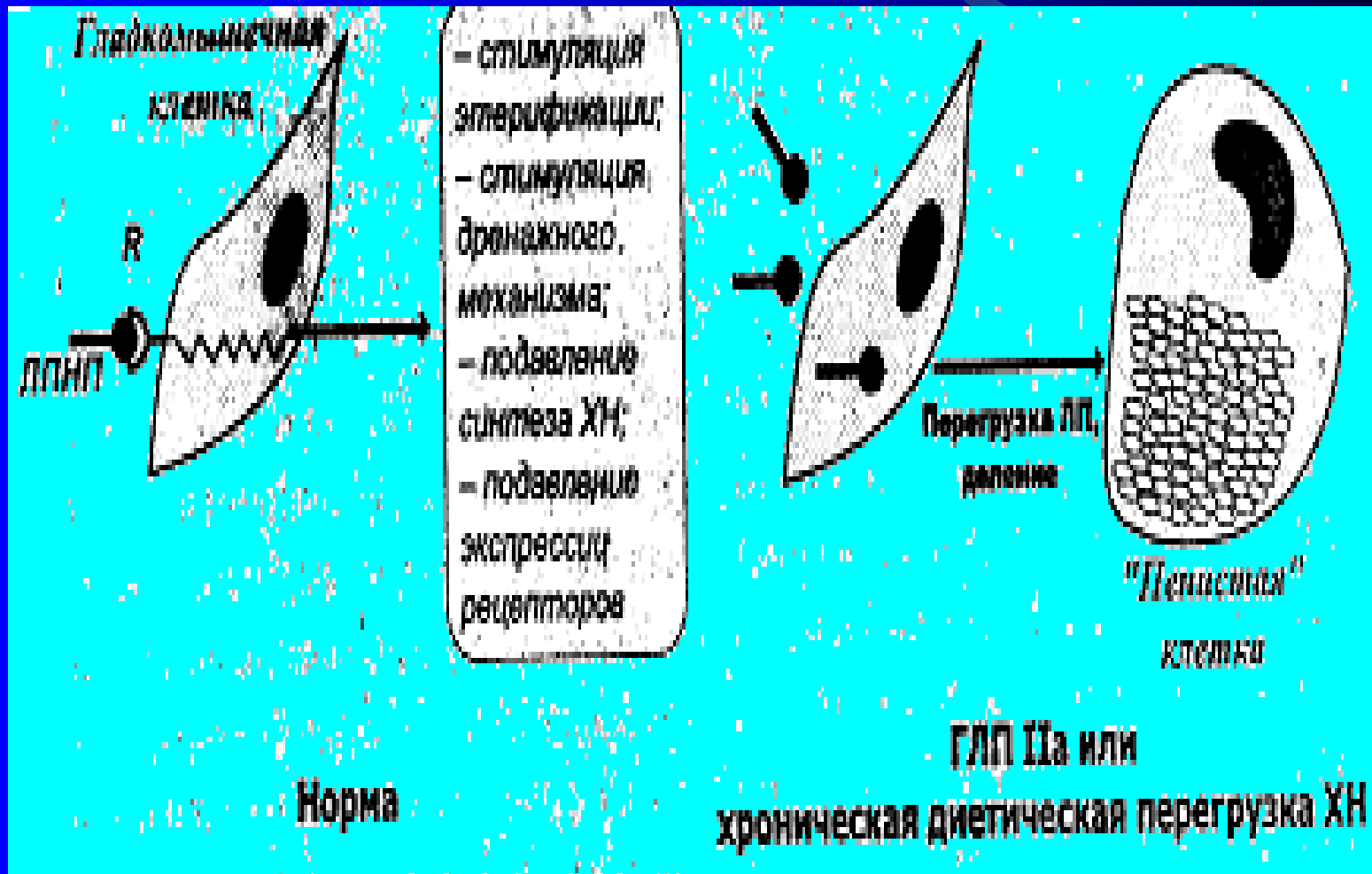


Коли клітинний рецептор, що контролює включення тих чи інших програм, стимулюється або блокується позаштатним сигналом, помилково прийнятим клітиною за гормональний або медіаторний стимул.

Певним прикладом цього є вироблення аутоантитіл, що копіюють структуру тих чи інших гормонів або медіаторів, і здатні зв'язуватися з відповідними рецепторами.

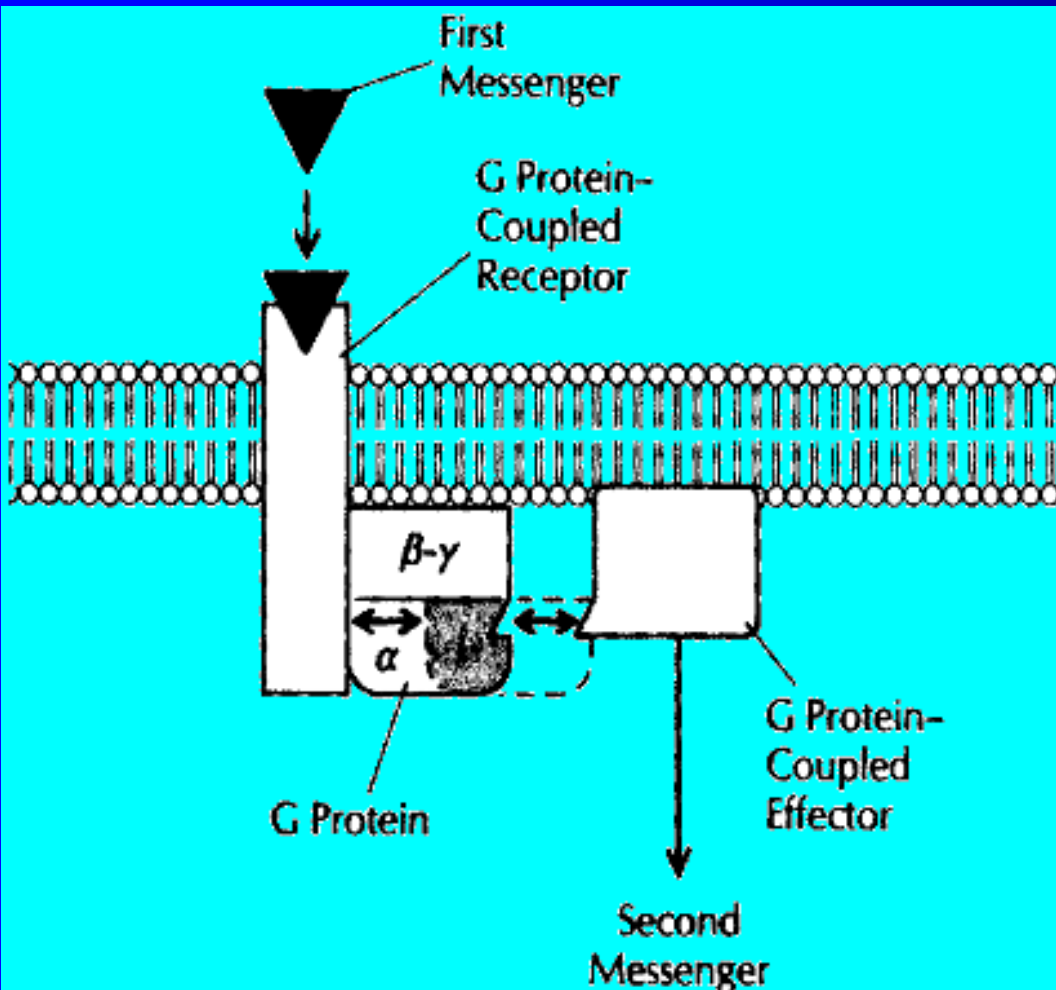
II. Порушення рецепції

- блокада
- стимуляція



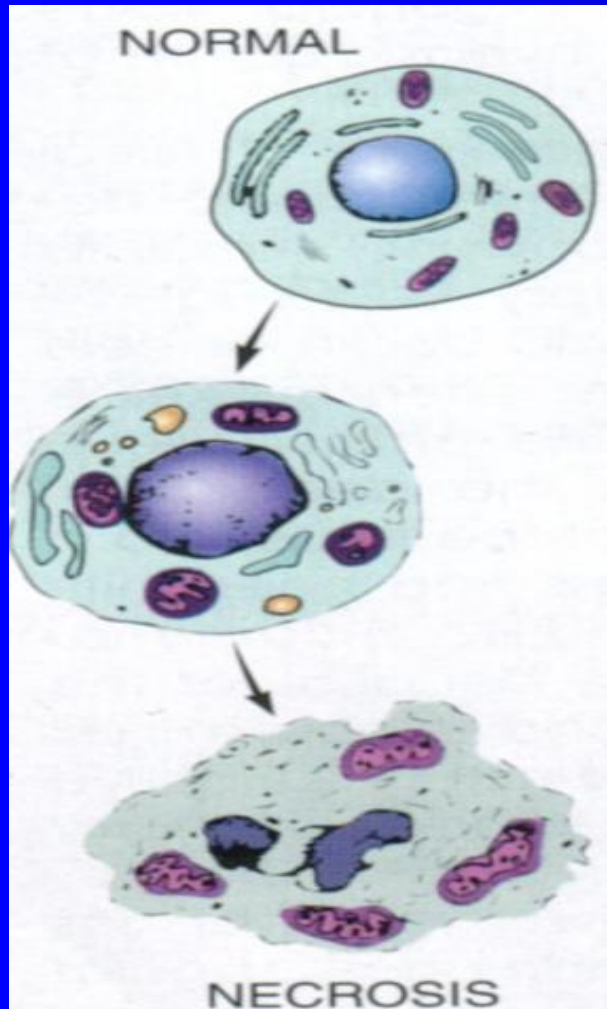
III. Порушення пострецепторного сполучення

- блокада
- помилкова стимуляція



- Приклад **блокади**: При псевдогіпопаратиреозі через мутацію гена одного з G-білків ($G_{s\alpha}$) клітини стають резистентними до паратгормону.
- Приклад **помилкової стимуляції**: При холері екзотоксин викликає АДФ-рибозилування α -субодиниць Gs-білка в клітинах кишкового епітелію, що призводить до "зависання" цього передавача сигналу в активному стані. У результаті надлишкової продукції клітиною цАМФ починається екскреція води та електролітів у просвіт кишечника.
- Пухлинний ріст.

МЕХАНІЗМИ СМЕРТІ КЛІТИН



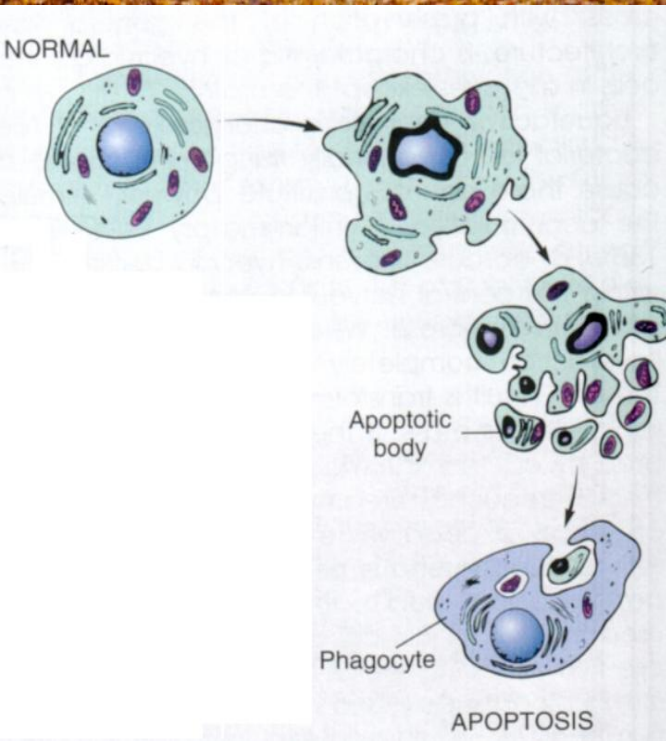
НЕКРОЗ

загибель клітини настає під дією несприятливих зовнішніх впливів і супроводжується порушенням утворення енергії. Наслідком цього є зміни в цитоплазмі, розрив лізосом з виділенням активованих гідролітичних ферментів, які призводять до розщеплення й фрагментації компонентів клітини (ядра, плазматичної мембрани тощо), розвитку аутолізу.

АПОПТОЗ

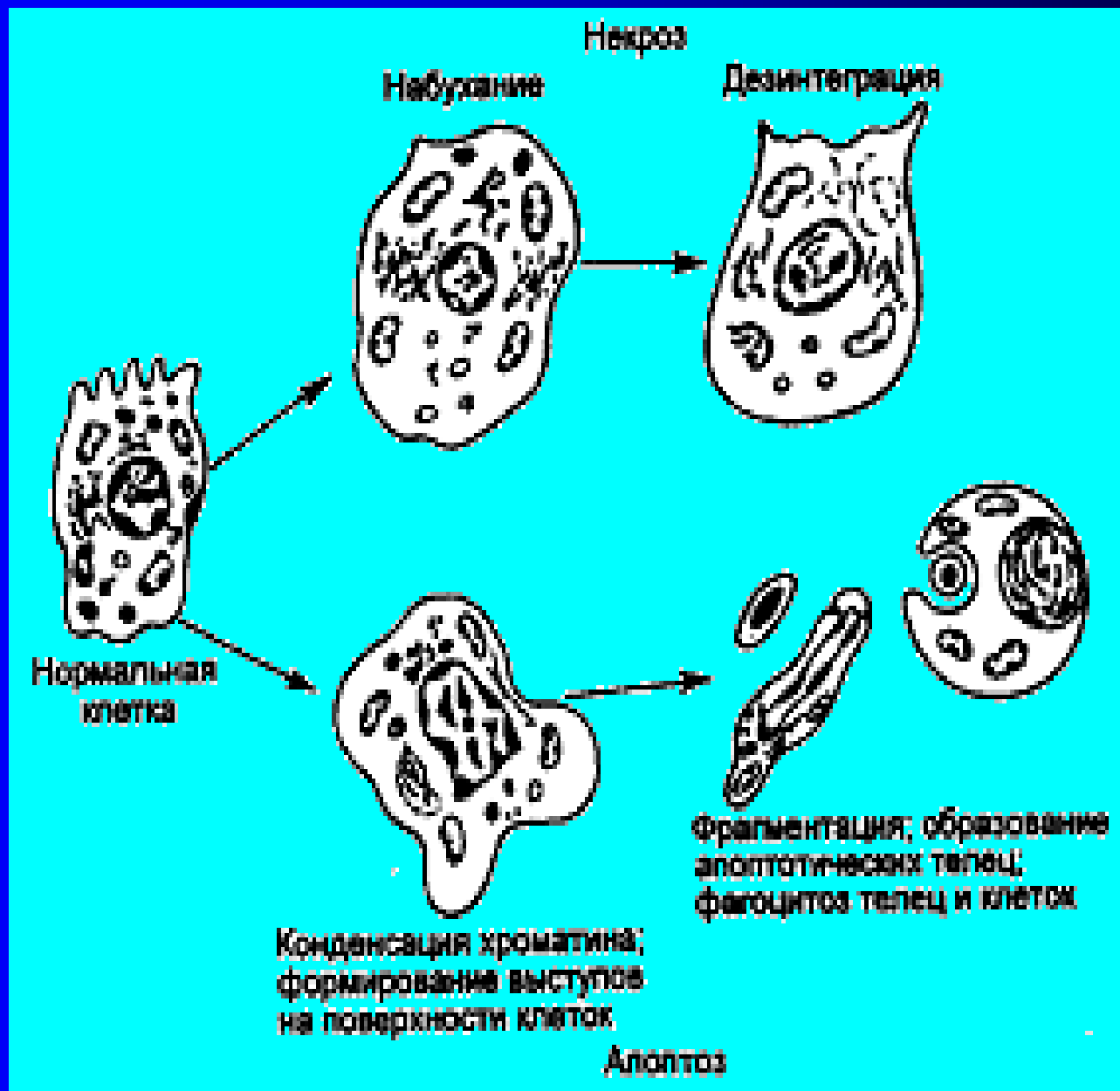
(грец. – опадання листя)

форма загибелі клітини, що проявляється в зменшенні її розміру, конденсації та фрагментації хроматину, ущільненні зовнішньої і цитоплазматичних мембран без виходу вмісту клітини в навколишнє середовище



ПРОГРАМОВАНА ЗАГИБЕЛЬ

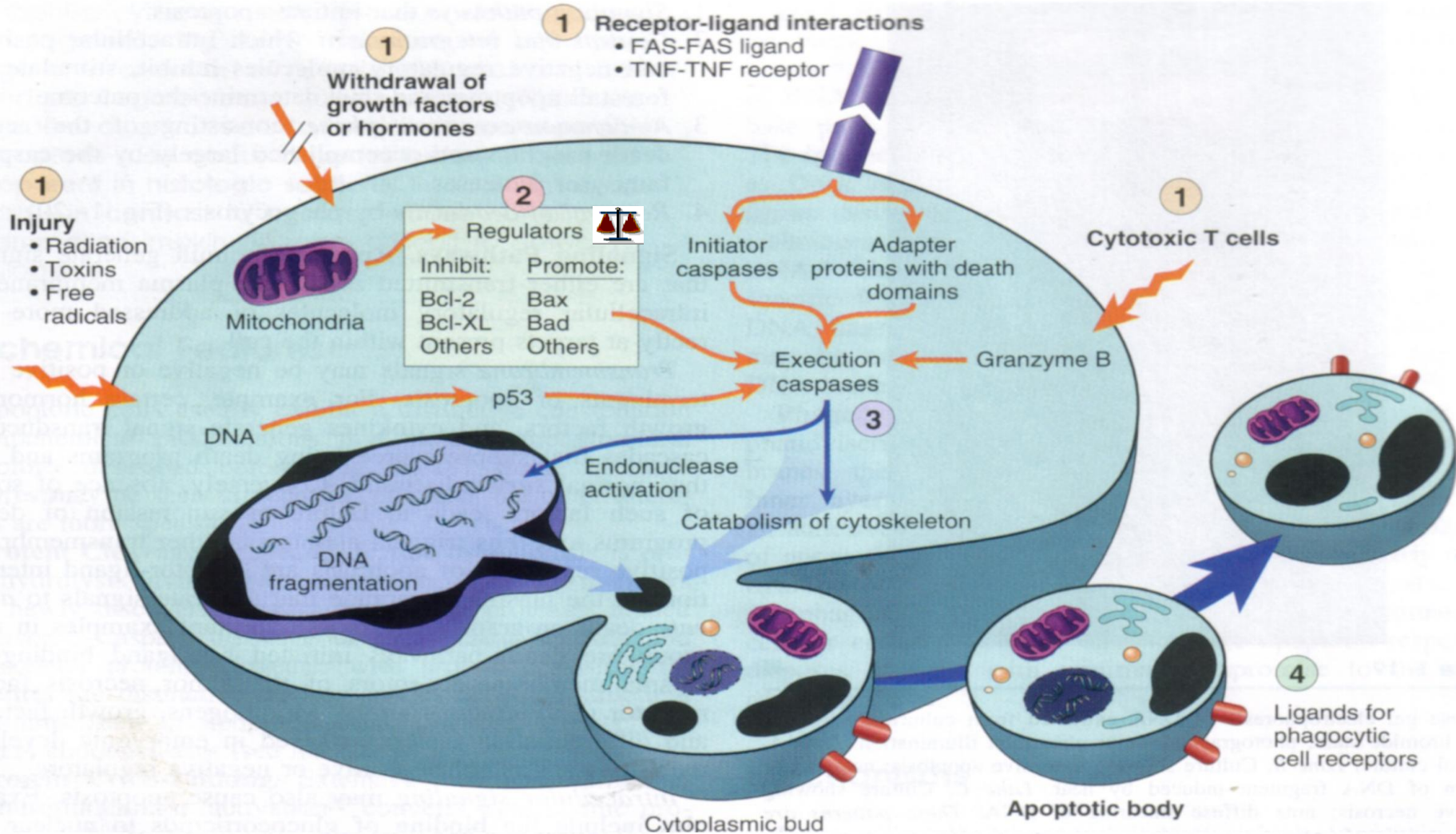
активна форма загибелі клітини, що є результатом реалізації її генетичної програми або відповіддю на зовнішні сигнали та потребує витрати енергії й синтезу макромолекул de novo



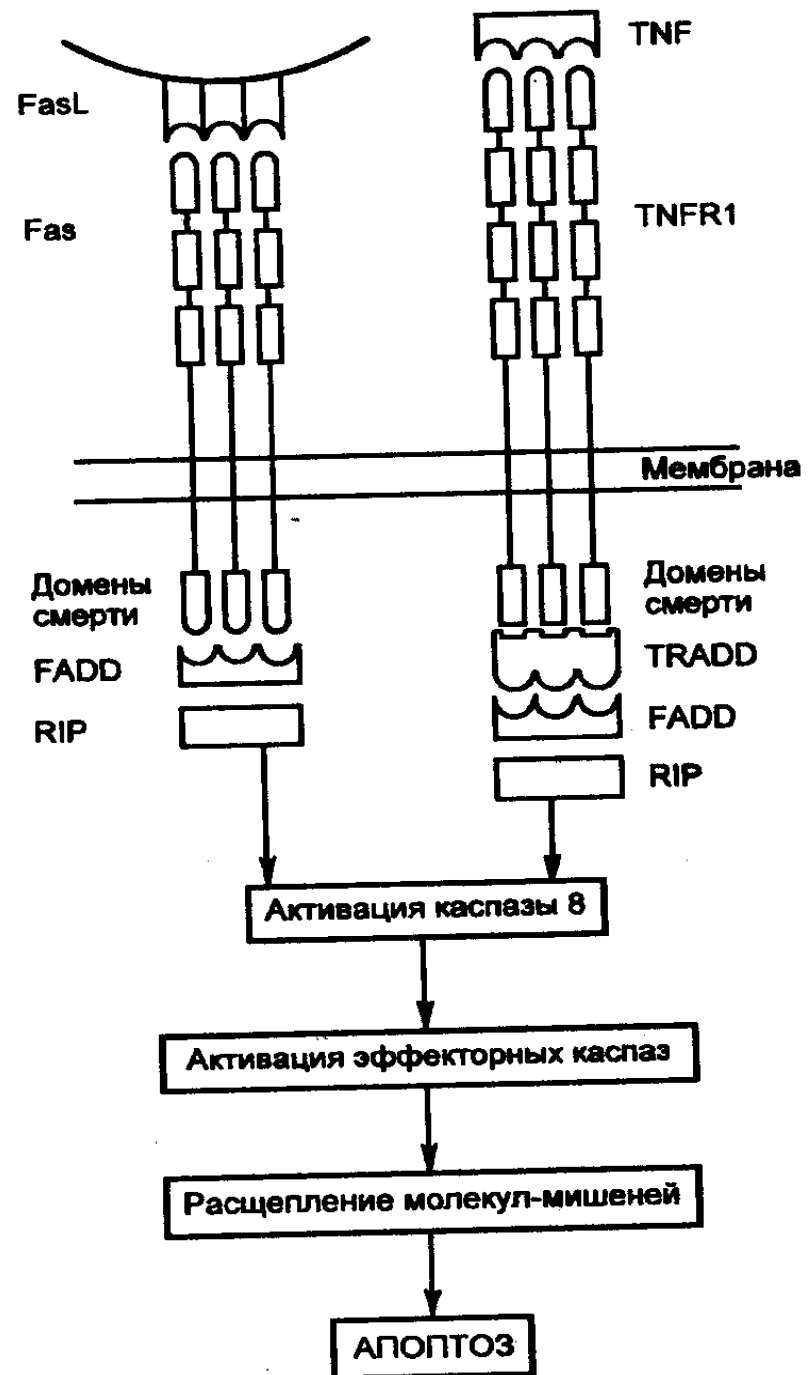
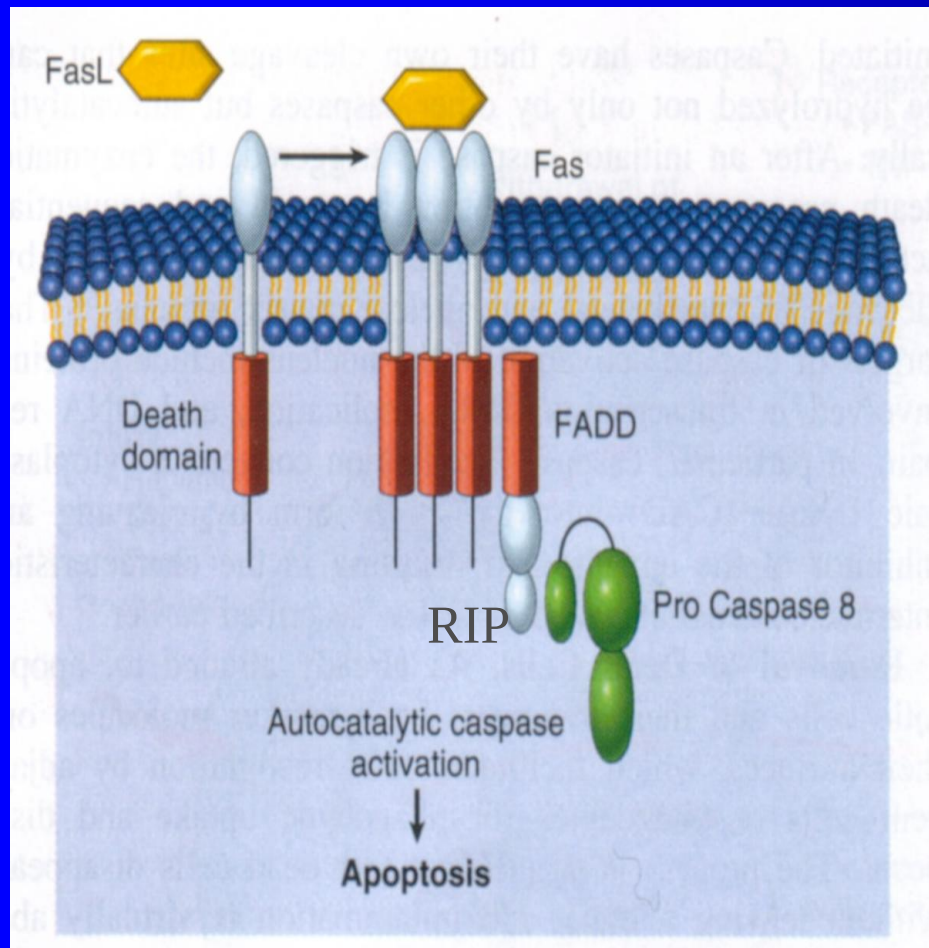
Показники	АПОПТОЗ	НЕКРОЗ
Пусковий фактор	Сигнал, який сприймається мембранними рецепторами, або відсутність сигналу	Токсичні і мембранотропні агенти, неадекватні зовнішні умови
Швидкість розвитку	1-12 год	в межах 1 год
Локалізація первинного ушкодження	в ядрі	в мембрані
Причини загибелі клітини	деградація ДНК, порушення енергетики клітини	порушення цілісності мембрани
Зміни розміру клітини	зменшення (зморщення)	збільшення (набухання)
Зміни ядра	конденсація хроматину, пікноз, фрагментація	набухання
Зміни в цитоплазмі	конденсація цитоплазми, ущільнення гранул	лізис гранул
Зміни клітинної мембрани	втрата мікроворсинок, утворення вибухань	порушення цілісності
Стан ДНК	розриви з утворенням спочатку великих, потім дрібних фрагментів	неупорядкована деградація
Енергозалежність	залежить	не залежить
Залежність від синтезу макромолекул	залежить	не залежить

СТАДІЇ АПОПТОЗУ

- індукторна
- ефекторна
- деградації

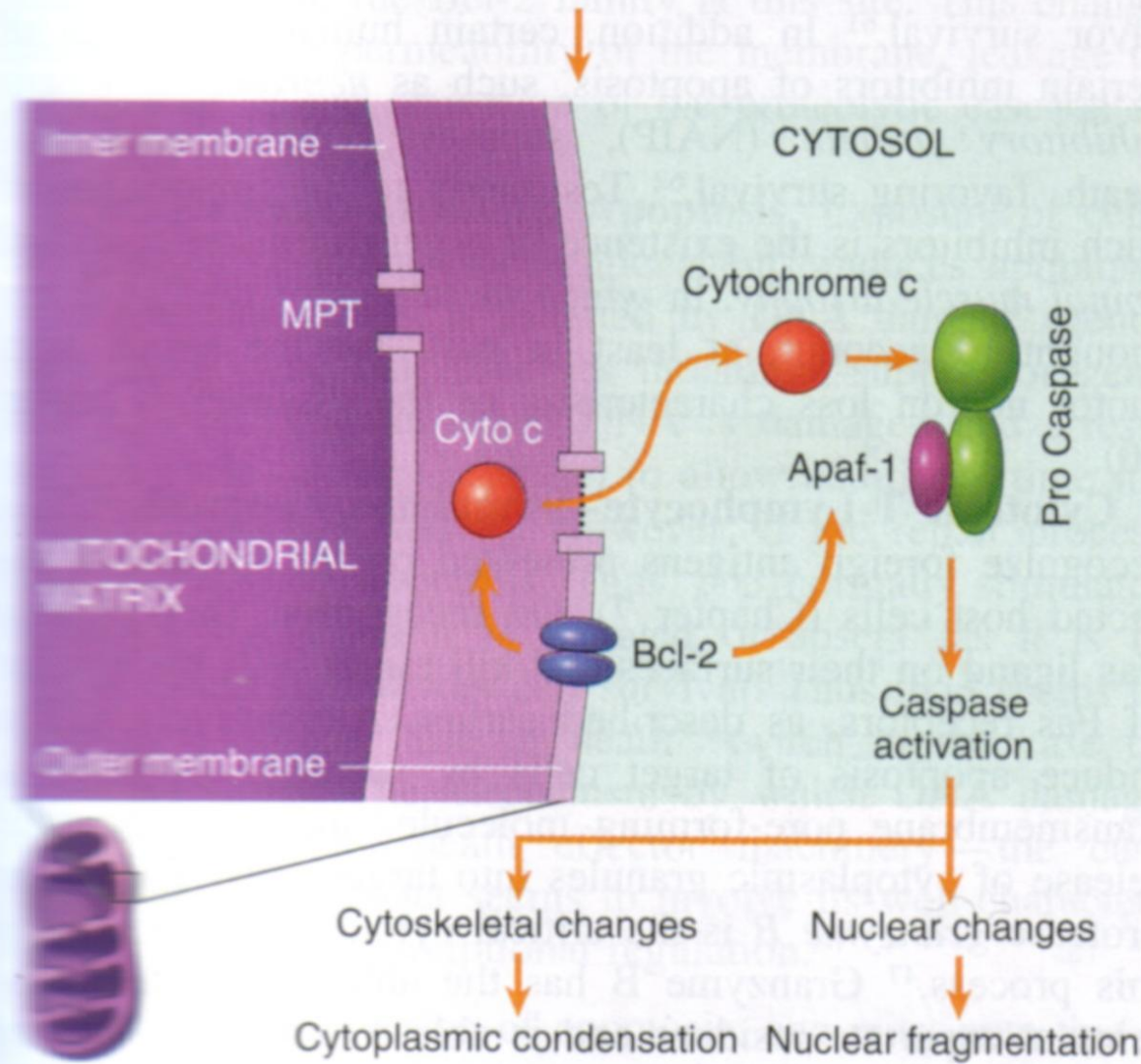


Schematic representation of apoptotic events. Labeled (1) are multiple stimuli of apoptosis. These include specific death ligands (tumor necrosis factor [TNF] and Fas ligand), withdrawal of growth factors or hormones, or injurious agents (e.g., radiation). Some stimuli (such as cytotoxic cells) directly activate execution caspases (*right*). Others act by way of adapter proteins and initiator caspases (see Fig. 1–22), or by mitochondrial events involving cytochrome *c*. (2) Control and regulation are influenced by members of the Bcl-2 family of proteins, which can either inhibit or promote the cell's death. (3) Execution caspases activate latent cytoplasmic endonuclease, and proteases that degrade cytoskeletal and nuclear proteins. This results in a cascade of intracellular degradation, including fragmentation of nuclear chromatin and breakdown of the cytoskeleton. Not shown is transglutaminase-induced cross-linking of proteins. (4) The end result is formation of apoptotic bodies containing various intracellular organelles and other cytosolic components; these bodies also express new ligands for binding and uptake by phagocytic cells.

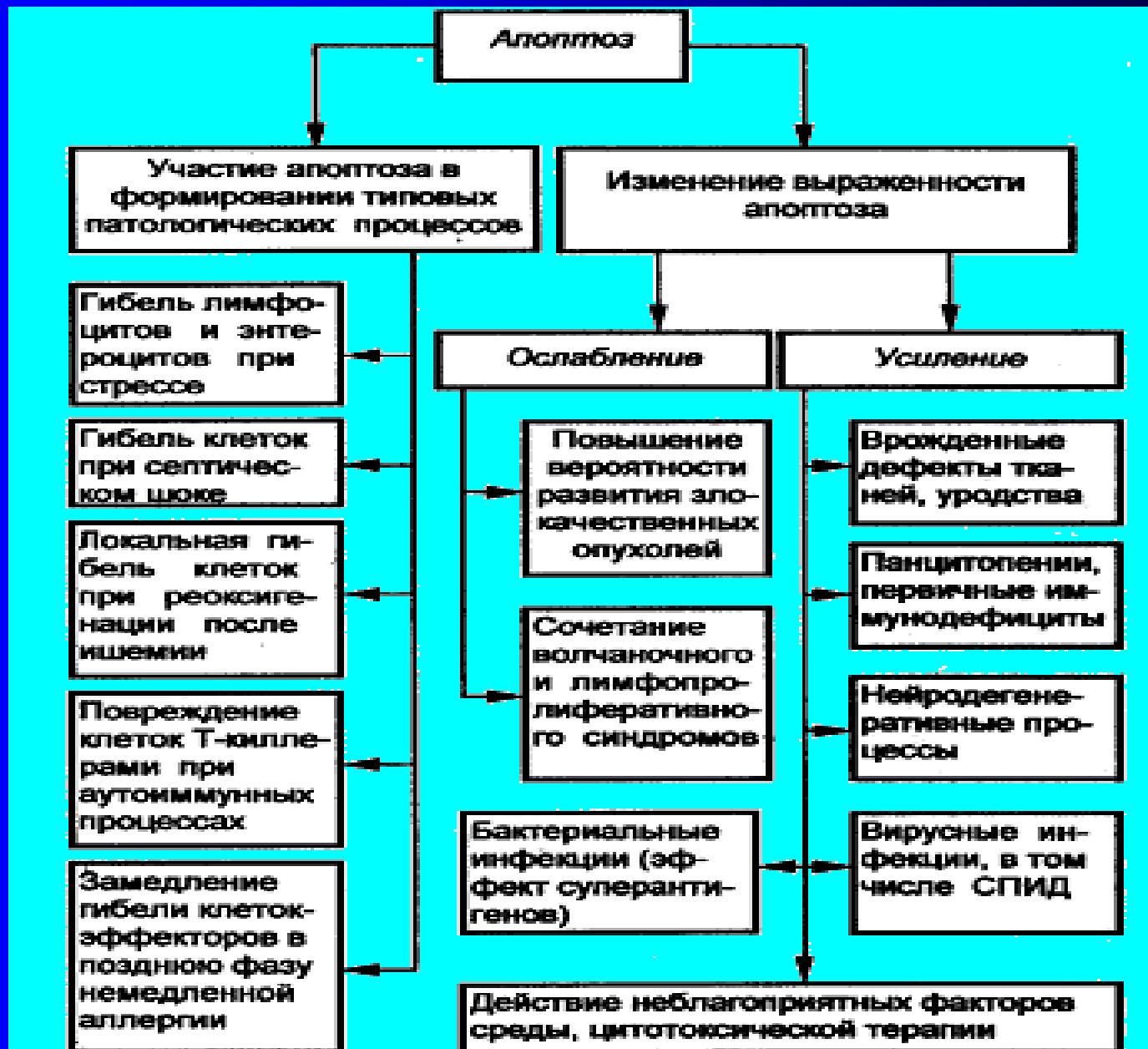


Основним механізмом, за допомогою якого каспази приймають участь у реалізації апоптозу, є інактивація білків-інгібіторів ДНКаз.

Possible modes of action of Bcl-2



РОЛЬ АПОПТОЗУ В ПАТОЛОГІЇ



Дякую за увагу!

