

Vážené kolegyně a kolegové,
v dnešním čísle Laboratorních listů vám přinášíme podrobné informace o buněčné smrti a jejím imunobiologickém významu.

BUNĚČNÁ SMRT A JEJÍ IMUNOBIOLOGICKÝ VÝZNAM

Buněčná smrt je **souhrn procesů vedoucích ke konci života buňky**, tedy do okamžiku, kdy buňka přestane vykonávat své funkce. To může být výsledkem přirozeného procesu odumírání starých buněk a jejich nahrazování novými, nebo to může být důsledkem nemoci, lokalizovaného poškození nebo smrti organismu. Podle toho, jaké morfologické a jiné znaky umírající buňka vykazuje, lze programovanou buněčnou smrt klasifikovat do některého ze základních typů. Morfologie buňky může být **apoptotická, nekrotická, autofagická** či **spojená s mitózou**. Historicky nejstarší typ identifikované programované buněčné smrti je apoptóza. Nekrótoza a buněčná smrt asociovaná s autofagií jsou další dva typy programované buněčné smrti popsané u nejrůznějších typů buněk.

Kromě morfologických znaků jsou dalším kritériem funkční aspekty, kterými rozlišujeme buněčnou smrt *fyziologickou, patologickou, náhodnou* či *programovanou*. Enzymologicky pak lze určit, do jaké míry jsou aktivovány nukleázy a proteázy různých tříd. Aktivace různých typů buněčné smrti se v jednotlivých buňkách vzájemně nevylučuje, naopak mohou spolupracovat či sdílet některé signální molekuly. Jsou-li např. makrofágy ve tkáních vystaveny různým stresorům, je většinou současně indukováno více typů buněčné smrti, přičemž apoptóza probíhá nejrychleji, zatímco autofagie nebo nekróza jsou obvykle pozorovatelné až v případě, kdy je apoptóza inhibována.

Apoptóza

Buňka umírající apoptózou vykazuje charakteristické morfologické změny, které ji odlišují od nekrózy – kondenzace a fragmentace chromatinu v jádře, tvorba výběžků cytoplazmatické membrány (membránové puchýřky), celkové zmenšení a zakulacení buňky a v pozdních fázích rozpad celé buňky do tzv. apoptotických tělísek. Tato tělíška obsahují stále funkční orgány, fragmenty kondenzovaného jádra a udržují si intaktní membránu, která se od membrány zdravých buněk liší přítomností fosfatidylserinu na její vnější straně. To umožňuje rozpoznání a následné pohlcení apoptotických tělísek sousedními buňkami či buňkami imunitního systému. Z biochemického hlediska jsou v umírající buňce typicky aktivovány proteolytické enzymy kaspázy, které štěpí řadu cílových proteinů, a nukleázy, degradující DNA.

Aby buňka mohla zahájit proces své vlastní eliminace, musí obdržet odpovídající signály. Vnější dráha je aktivována vazbou ligandů smrti (TRAIL, FasL, TNF) na receptory smrti (DR4/DR5, Fas, TNFR a další), a přes další adaptorové proteiny aktivují prokaspázu-8, případně prokaspázu-10. Vnitřní dráha je odpovědná za iniciaci apoptózy v případě neopravitelného poškození DNA. Do její regulace se zapojuje celá řada pro- i anti-apoptotických proteinů. Poškození DNA vede ke stabilizaci a aktivaci proteinu p53, který apoptotický signál dále přenáší především prostřednictvím regulace proteinů rodiny Bcl-2.



Zásadní událostí v klasické apoptotické signalizaci je částečná permeabilizace mitochondriální membrány, jež vede k uvolnění pro-apoptotických molekul z mezimembránového mitochondriálního prostoru do cytosolu. Celý proces apoptózy buňky je spuštěn složitou soustavou různých látek. Tyto látky mohou být jak mimobuněčného původu, tak vnitrobuněčné. Z mimobuněčných molekul může apoptózu spustit vystavení buňky toxinům, hormonům, růstovým faktorům, oxidu dusnatému či cytokinům. Tyto látky buď proniknou přímo do buňky, nebo spustí biochemickou kaskádu z vnější části cytoplazmatické membrány. Jmenované látky mohou, jak spouštět, tak zastavovat apoptózu v cílové buňce (tzv. negativní a pozitivní účinek). Vnitrobuněčná cesta se spouští převážně ve chvíli, kdy je buňka v jakékoliv formě stresu, jako je vystavení glukokortikoidům, teplu, radiaci, nedostatek živin, virová infekce buňky, nedostatek kyslíku či také zvýšený obsah vápenatých iontů uvnitř buňky. Všechny tyto jmenované signály jsou na počátku enzymatické kaskády, která je zodpovědná za provedení vlastní apoptózy.

Apoptóza je proces, který vyžaduje aktivní účast buňky na svém vlastním zániku a jedná se tedy o energeticky náročný děj. Samotný proces lze rozdělit do dvou fází – **iniciační** a **efektorová**.

Iniciační fáze apoptózy

Spouštěčem mohou být nejrůznější faktory. Samotné navození procesu buněčné smrti nastává nejčastěji dvojitou cestou – vnitřní a vnější.

Vnitřní cesta fyziologicky nastává např. v embryogenezi nebo při ukončení hormonální stimulace. V buňce se vyskytují proapoptické a protiapoptické faktory, které regulují buněčnou smrt. Tyto faktory musí být ve vzájemné rovnováze. Při jejich vychýlení nastává apoptóza.

Vnější cesta je proces, který je aktivován prostřednictvím imunitních buněk (např. cytotoxické CD8+ T-lymfocyty, NK-buňky). Imunitní buňky se svými ligandy vážou na receptory smrti na buněčné membráně (TNF-receptor, Fas-receptor). Tyto receptory obsahují na intracelulární části tzv. death doménu (DD). Ligandy jsou exprimovány pouze na površích imunitních buněk, receptory smrti jsou součástí membrány všech buněk tkání organismu.

Efektorová fáze apoptózy

Dochází ke konvergenci dvou předchozích cest. Kaspázy 8 a 9 aktivují efektorové kaspázy, ty štěpí buněčné proteiny – aktin, lamin, reparační proteiny atd. Jejich působením dochází k aktivaci endonukleázy, která způsobí fragmentaci genomové DNA. Po aktivaci efektorových kaspáz je děj ireverzibilní.

Nekroptóza

Za pasivní formu buněčné smrti byla vždy považována nekróza. Ta je charakterizována rychlou a neregulovanou ztrátou integrity plazmatické membrány a buněčným kolapsem, ačkoliv integrita jádra zůstává poměrně dlouho zachována. V posledních letech se však objevily studie prokazující, že alespoň část buněk s nekrotickou morfologií umírá regulovaným procesem zvaným programovaná nekróza nebo také nekroptóza. Nekrotická smrt je pro buňku nejen záložní postup v případech, kdy je apoptóza z nějakého důvodu zablokována, ale má i svůj fyziologický význam např. jako obranný mechanismus při virových infekcích.

