

И. Н. ЛАВРИК

# АПОПТОЗ: заказное самоубийство

**Ключевые слова:** апоптоз, клеточная смерть, каспаза, рецепторы смерти.  
**Key words:** apoptosis, cell death, caspase, death receptor

Каждый день и каждый час в нашем организме погибают миллионы клеток. Отшелушиваются ороговевшие клетки покровного эпителия, быстро изнашиваются и гибнут клетки слизистой ткани, выстилающей пищеварительный тракт, лейкоциты – белые клетки крови, находят свою смерть в борьбе с патогенами... Но как наше тело избавляется от специализированных клеток, когда в результате накопившихся внутренних повреждений они становятся неспособными выполнять свои функции? Одним из самых парадоксальных и удивительных механизмов, контролирующих жизнеспособность многоклеточного организма, является апоптоз – клеточная самоликвидация

Самое название этого типа клеточной смерти – *апоптоз*, что в переводе с греческого означает «падающие листья», говорит о том, что он является такой же естественной и неотъемлемой чертой многоклеточного организма, как сезонная смена листвы для деревьев. Апоптоз запускается, когда клетка имеет серьезные повреждения, ведущие к нарушению ее функций: в результате слаженной работы специальных систем, необратимо повреждающих основные клеточные структуры, такая клетка кончает жизнь «самоубийством».

Регулярная, генетически запрограммированная гибель отдельных клеток необходима для нормального функционирования организма в целом. Все клетки многоклеточных существ обладают аппаратом апоптоза, так же как японские самураи всю жизнь носят с собой меч. Однако у этого естественного процесса есть и обратная сторона: если по каким-то причинам тонкий механизм апоптоза разлаживается, последствия для организма могут оказаться самыми катастрофическими.

Нарушения в запуске апоптоза ведут к возникновению ряда серьезных заболеваний, в том числе аутоиммунных и онкологических. Например, раковые клетки, блокируя систему апоптоза, приобретают бессмертие. Поэтому изучение механизмов клеточной самоликвидации является важнейшим направлением современных биомедицинских исследований: раскрытие тайн апоптоза поможет в разработке новых лекарств для борьбы с самыми тяжелыми и трудноизлечимыми болезнями современности.

## Ферменты-киллеры

Итак, клетка выполнила свои функции, «постарела» и готова к самоуничтожению во благо всему организму. Кто же выполняет это «заказное» самоубийство?

Оказывается, в этом «детективе» про апоптоз имеются и свои затаившиеся киллеры. В этой роли выступают особые ферменты – *каспазы*, имеющиеся в каждой клетке (Salvesen, 2002; Nicholson, 1999; Lavrik *et al.*, 2005). Обычно каспазы присутствуют в клеточной цитоплазме в виде неактивных предшественников (прокаспаз). Прокаспазы не проявляют никакой активности, мирно сосуществуют в клетке вместе с другими белками, однако при поступлении сигнала на самоуничтожение они превращаются в настоящие белки-убийцы.

«Смена имиджа» безобидных прокаспаз происходит так: белок расщепляется на три фрагмента, один

слева – клетка линии HeLa, в которой запущен процесс апоптоза (клеточного самубийства). Электронная микроскопия. Фото Т. Деринка и М. Эллисмана (Национальный центр микроскопии и исследования изображений, Калифорнийский университет в Сан-Диего (NCMIR/UCSD), США)

из которых (*продомен*) отщепляется, а остальные соединяются с двумя аналогичными фрагментами другой прокаспазы. Благодаря такой структурной перестройке образуется активный гетеротетрамер каспазы, в котором аминокислоты формируют центр фермента, выполняющий каталитическую функцию (Salvesen, 2002).

Образовавшиеся активные каспазы наконец показывают свое настоящее лицо: они начинают расщеплять все белки, которые содержат остатки аминокислоты аспарагина (при условии, что рядом располагаются определенным образом остатки еще трех других аминокислот). В результате такой «подрывной» деятельности в клетке оказываются поврежденными сотни белков. К числу наиболее известных мишеней каспаз относятся белки *цитоскелета* (структурного каркаса клетки); белки, отвечающие за *репарацию* (восстановление) поврежденной ДНК; структурные белки оболочки клеточного ядра, а также ряд других жизненно важных белков. Все это приводит к нарушению всех процессов жизнедеятельности клетки.

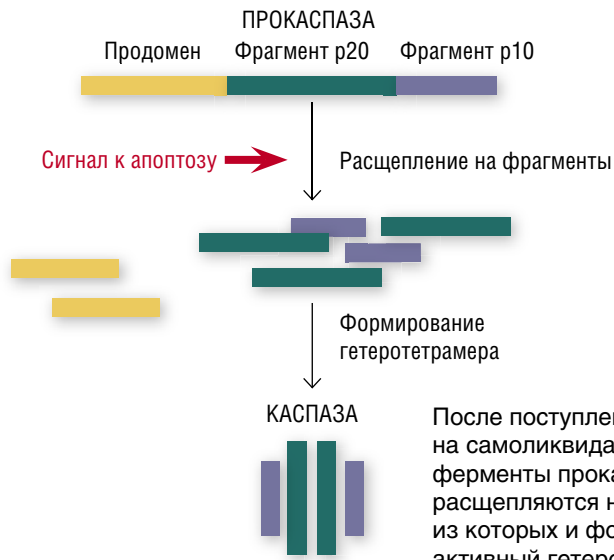
В то же время каспазы активируют ряд белков, которые участвуют в выполнении программы самоликвидации. Например, белка, который разрезает ДНК на большие фрагменты, – этот процесс, после которого целостность ДНК необратимо уничтожается, является характерной чертой апоптоза.



ЛАВРИК Инна Николаевна – заведующая лабораторией прикладных аспектов воспаления, профессор Магдебургского Университета им. Отто фон Герике (Германия), ведущий сотрудник Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, лаборатория исследований механизмов апоптоза. Лауреат Государственной премии РФ (1998). Автор и соавтор 57 научных работ

© И. Н. Лаврик, 2013





После поступления «приказа» на самоликвидацию неактивные ферменты прокаспазы в клетке расщепляются на фрагменты, из которых и формируется активный гетеротетрамёрный фермент – каспаза, способная расщеплять структуры, жизненно важные для клетки

### Сигнал на запуск

Но каким же образом клетка узнает, что ей пора самоликвидироваться? Кто и как дает указания киллерам-каспазам?

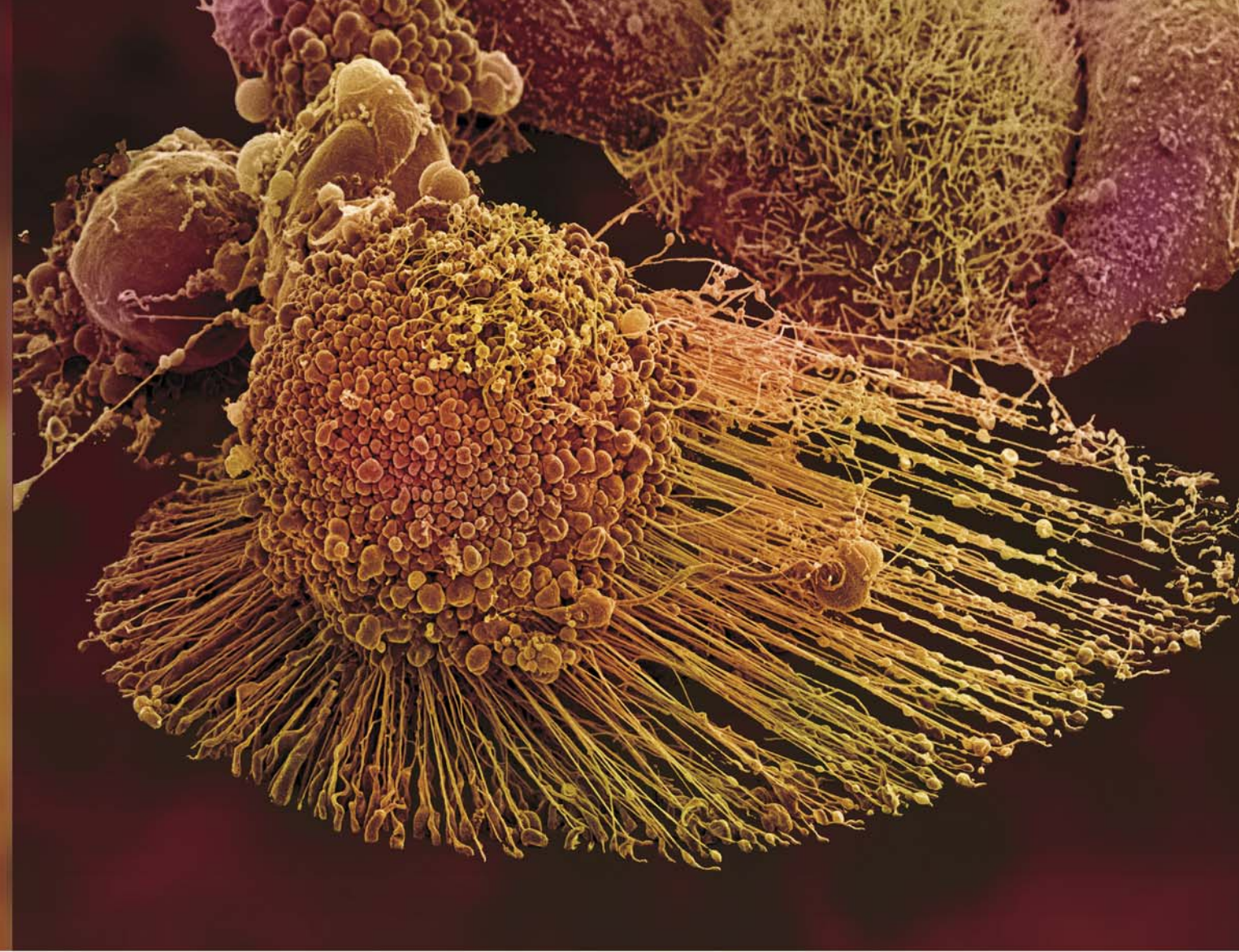
Имеется два основных пути, по которым передаются апоптотические сигналы в виде клеточных регуляторов, таких как гормоны, антигены, моноклональные антитела и другие молекулы. Это *митохондриальный* (или *внутренний*) путь, а также через особые трансмембранные белки – так называемые *рецепторы смерти* (DR, от англ. *death receptor*). В обоих случаях для запуска апоптоза должны образоваться особые *инициаторные апоптотические комплексы*. Затем происходит активация так называемых *инициаторных* каспаз, которые, в свою очередь, активируют *эффекторные* (разрушающие клеточные структуры) каспазы, о которых упоминалось выше (Nicholson, 1999).

Митохондриальный путь инициируется в результате интенсивного воздействия на клетку ряда повреждающих факторов. Однако каким образом эти повреждения трансформируются в митохондриальный апоптотический сигнал, пока в деталях не установлено. Тем не менее достоверно известно, что первым шагом на этом пути является выход из митохондрий («энергетических фабрик» клетки) *цитохрома С* – небольшого белка, содержащего комплекс с железом, который является компонентом митохондриальной дыхательной цепи (Green *et al.*, 2004).

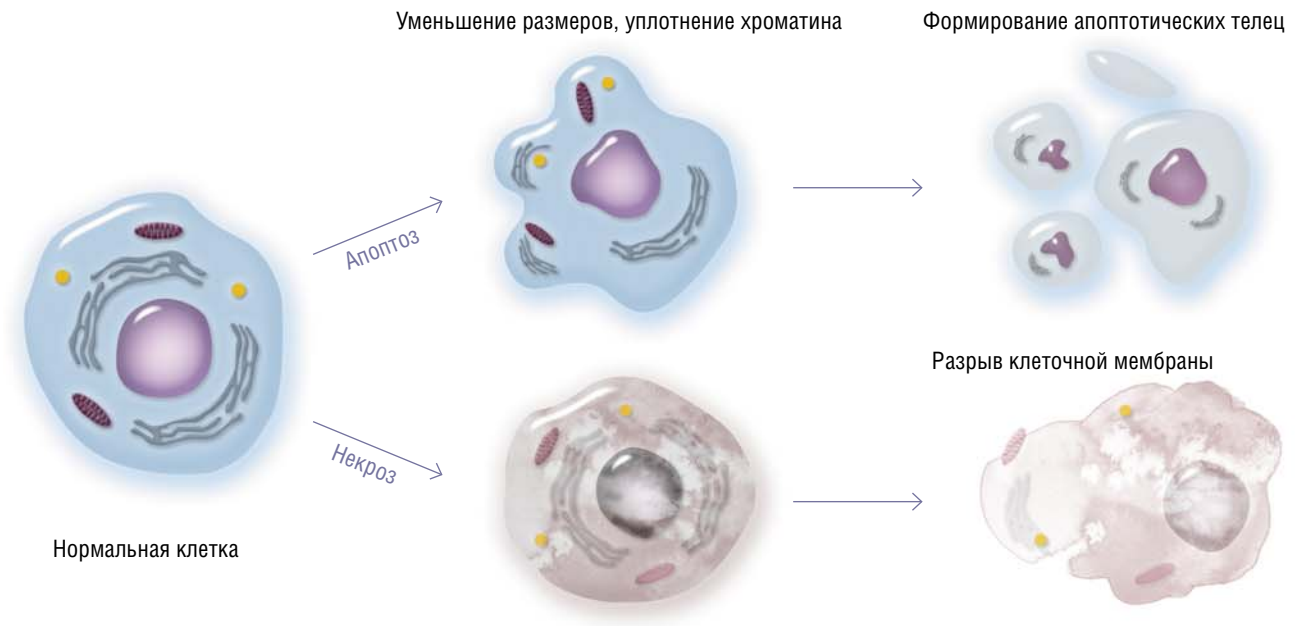
Выход цитохрома С инициирует образование в цитоплазме клетки крупного белкового комплекса – *апоптосомы*, в которую, помимо самого митохондриального белка, входят прокаспазы-9 и белок АПАФ-1. Именно апоптосома и является настоящим «мафиозным боссом» митохондриального пути апоптоза, который дает сигнал киллерам-каспазам.

Речь идет об очень интересном явлении – самоактивации прокаспазы. Такое может произойти лишь в том случае, когда две молекулы этого белка, ориентированные определенным образом относительно друг друга, образуют димер. Именно такие уникальные пространственные условия, необходимые для димеризации и каталитической активации фермента, и предоставляет прокаспазе-9 апоптосома. Образовавшаяся в результате активная каспаза-9 расщепляет эффекторные каспазы

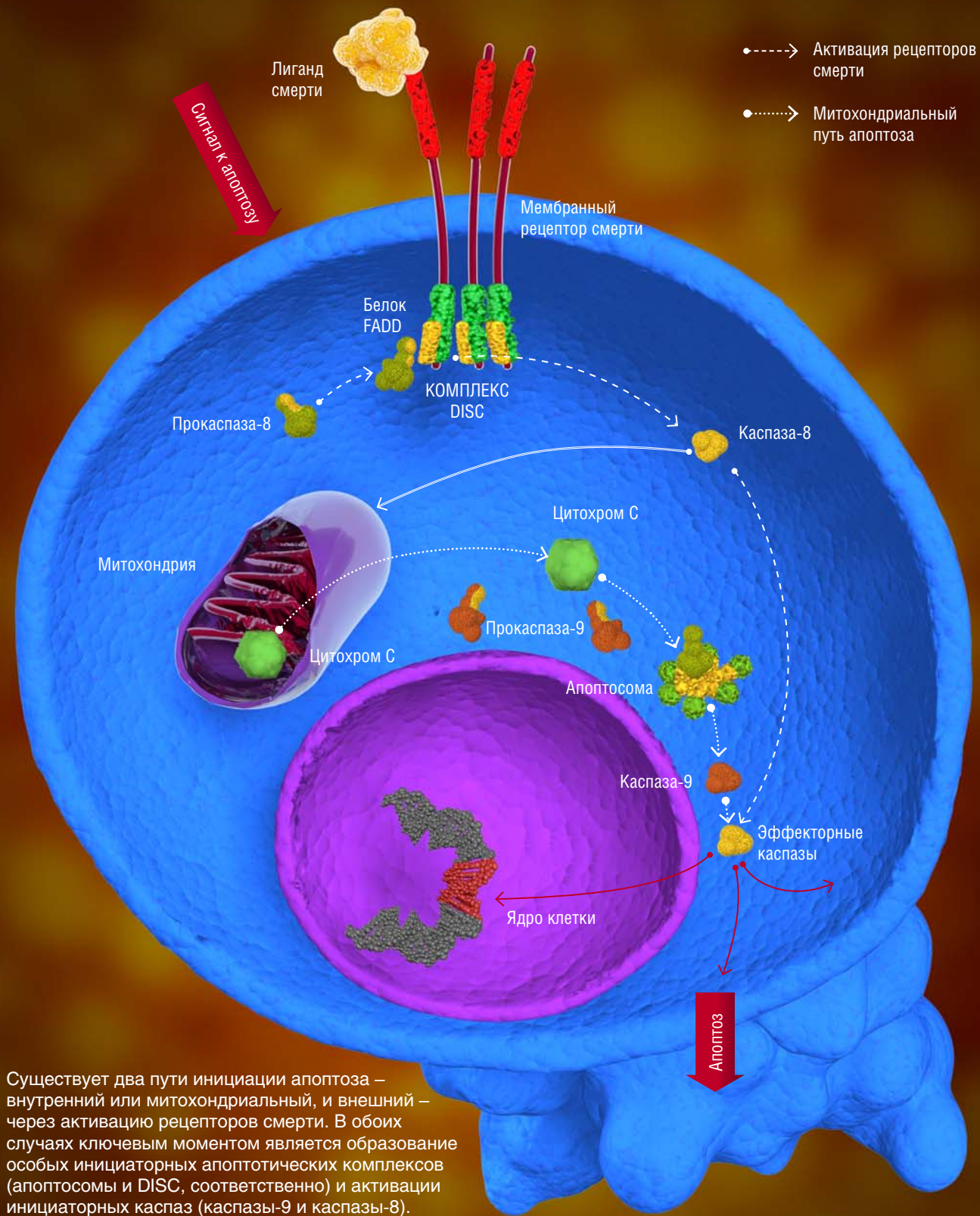
Среди всех линий человеческих клеток, непрерывно размножающихся в лабораторных условиях, самой известной является HeLa. Она была получена в 1951 г. из раковой опухоли шейки матки темнокожей американки Г. Лакс (Henrietta Lacks), умершей в том же году. С тех пор было опубликовано свыше 65 тыс. научных работ, выполненных с применением этих клеток. Но хотя сама клеточная линия потенциально «бессмертна», в стареющих или поврежденных клетках инициируется апоптоз (запрограммированная смерть). На поверхности умирающей клетки (справа) образуются пузырьки (везикулы), называемые апоптотическими тельцами. *Электронная микроскопия. Фото Т. Деринка и М. Эллисмана (Национальный центр микроскопии и исследования изображений, Калифорнийский университет в Сан Диего (NCMIR/UCSD), США)*



При апоптозе происходят необратимые изменения клеточной морфологии. Клетка уменьшается и фрагментируется на апоптотические тельца, при этом клеточная мембрана остается неповрежденной. Это предотвращает вытекание токсических и иммуногенных веществ в межклеточное пространство в то время, когда она поглощается и переваривается специализированными клетками (макрофагами). В случае же альтернативного (патологического) типа клеточной смерти – некроза, клетка набухает, мембрана разрывается и содержимое клетки выходит наружу, что приводит к воспалению







Существует два пути инициации апоптоза – внутренний или митохондриальный, и внешний – через активацию рецепторов смерти. В обоих случаях ключевым моментом является образование особых инициаторных апоптотических комплексов (апоптосомы и DISC, соответственно) и активации инициаторных каспаз (каспазы-9 и каспазы-8). Инициаторные каспазы активируют эффекторные каспазы, которые, в свою очередь, активируют ряд белков, участвующих в выполнении программы самоликвидации

(каспазу-3 и каспазу-7), а дальше все происходит по стандартной схеме апоптоза (Green *et al.*, 2004).

В случае рецептор-зависимого сигнального пути инициация апоптоза начинается с другого белкового комплекса, который образуется непосредственно на самом рецепторе смерти (Krammer *et al.*, 2007; Lavrik *et al.*, 2005).

К настоящему времени семейство таких рецепторов включает шесть представителей, в том числе рецептор такого широко известного белка, как фактор некроза опухоли. Все рецепторы смерти имеют одинаковый фрагмент из 80 аминокислот – так называемый *домен смерти*, расположенный на белковом «хвостике», выходящем в цитоплазму клетки. Такой же аминокислотный фрагмент имеет и белок-адаптер FADD, находящийся в цитоплазме клетки. Домены смерти могут взаимодействовать между собой с образованием устойчивой связи; FADD, в свою очередь, способен присоединять к себе прокаспазу.

Вся цепь событий по образованию апоптотического комплекса запускается *лигандом смерти* – белком-агонистом, способным специфично связываться с рецептором смерти. Синтез (и, соответственно, рост концентрации) таких молекул в клетке стимулируется каскадом процессов, возникающих в ответ на повреждение клетки. В результате, благодаря посредничеству FADD, на рецепторе образуется комплекс DISC (от англ. *death-inducing signaling complex*), что в дословном переводе означает «сигнальный комплекс, инициирующий гибель». Именно в этом комплексе, как и в апоптосоме, происходит самоактивация прокаспазы-8, которая, в свою очередь, активирует эффекторные каспазы (каспазу-3 и каспазу-7) и инициирует клеточную гибель (Lavrik *et al.*, 2005; Krammer *et al.*, 2007). Собственно говоря, на этом различия между запуском двух сигнальных путей апоптоза заканчиваются.

### Жить или не жить?

Нужно отметить, что любая клетка организма постоянно подвергается многочисленным повреждающим воздействиям, таким как радиационное излучение разных типов, разнообразные химические агенты, недостаток питательных веществ и т. п. К счастью для нас, для полноценной инициации клеточной гибели необходимо сравнительно сильное воздействие. На страже апоптотических путей стоят специфические механизмы, играющие роль «регулирующих движителей». Эту роль играют особые белки XIAPs и FLIP (Lavrik *et al.*, 2005).

Белки XIAPs ингибируют каспазу-9, которая активируется вследствие разворачивания митохондриального пути. Связываясь с активным центром каспазы, они не дают «киллеру» выполнять свою работу. Однако с помощью этих белков клетке удается заблокировать

лишь небольшое число активных каспаз. Если же концентрация активных каспаз превышает некий пороговый уровень, то белков XIAPs становится недостаточно, и процесс апоптоза остановить уже невозможно.

В случае рецепторзависимого сигнального пути апоптоза ингибитором активации прокаспазы-8 служит близкий ей по структуре белок FLIP. Молекулы этого белка также могут связываться с апоптотическим комплексом DISC, конкурируя за «место» с молекулами прокаспазы, – при повышенной концентрации в цитоплазме они блокируют все возможные «места» такого связывания (Krammer *et al.*, 2007). В результате прокаспазы-8 не может быть активирована, и апоптоз не запускается.

Нарушения в уровне экспрессии как про- так и анти-апоптотических белков может привести к серьезным отклонениям от обычного образа жизни клетки. Так, повышенный уровень экспрессии белков XIAPs и FLIP имеют многие раковые клетки. Выбрав курс на собственное бессмертие, в конечном счете они приводят к гибели все многоклеточное «сообщество» организма.

Итак, в отличие от голливудского детектива, в истории про апоптоз нет главного действующего лица: своевременное уничтожение поврежденных клеток и в итоге – жизнеспособность организма зависит от слаженной цепочки событий, в которой участвует множество различных белковых молекул.

И здесь очень важны количественные показатели, такие как концентрация. Сегодня изучением того, как влияет на инициацию и дальнейший ход апоптоза уровень содержания в клетке различных молекул, занимается одна из передовых областей современной науки – системная биология (Bentele *et al.*, 2004). Основной ее постулат заключается в том, что протекание сложных процессов внутри клетки можно понять, лишь учитывая максимально большое число клеточных параметров. Для этого на основе экспериментальных данных создается компьютерная модель, которая учитывает действие множества факторов. Полученные таким образом предсказания о ходе основных клеточных процессов могут использоваться в борьбе с препятствиями человечества на пути к долгой и здоровой жизни.

*Литература*  
 Lavrik I.N., Golks A., Krammer P.H. Caspases: Pharmacological manipulation of cell death // *J. Clin. Invest.* 2005. V. 115, N 10. P. 2665–2672.  
 Krammer P.H., Arnold R., Lavrik I.N. Life and death in peripheral T cells // *Nat. Rev. Immunol.* 2007. V. 7. P. 532–542.  
 Green D.R. and Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death // *Science.* 2004. V. 305. P. 626–629.