



Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Ιατρική Σχολή



Π.Μ.Σ

«Μυοσκελετική Ογκολογία: Διάγνωση-Θεραπεία-Έρευνα»

Διάλεξη:

Μηχανισμοί κυτταρικού θανάτου

Επικ. Καθ. Χρήστος Αδαμόπουλος
cadamop@med.uoa.gr

Κτήριο 16, 2^{ος} όροφος, Γραφείο 240

Βραβείο Nobel στην Φυσιολογία ή Ιατρική 2002

Sydney
Brenner



John
Sulston

Robert Horvitz

«Γενετική ρύθμιση της ανάπτυξης οργάνων και προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου»

- Ταυτοποίηση γονιδίων κλειδιών στον *Caenorhabditis elegans*
- Αντιστοιχία με γονίδια σε άλλα είδη συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2002. NobelPrize.org

Είδη κυτταρικού θανάτου

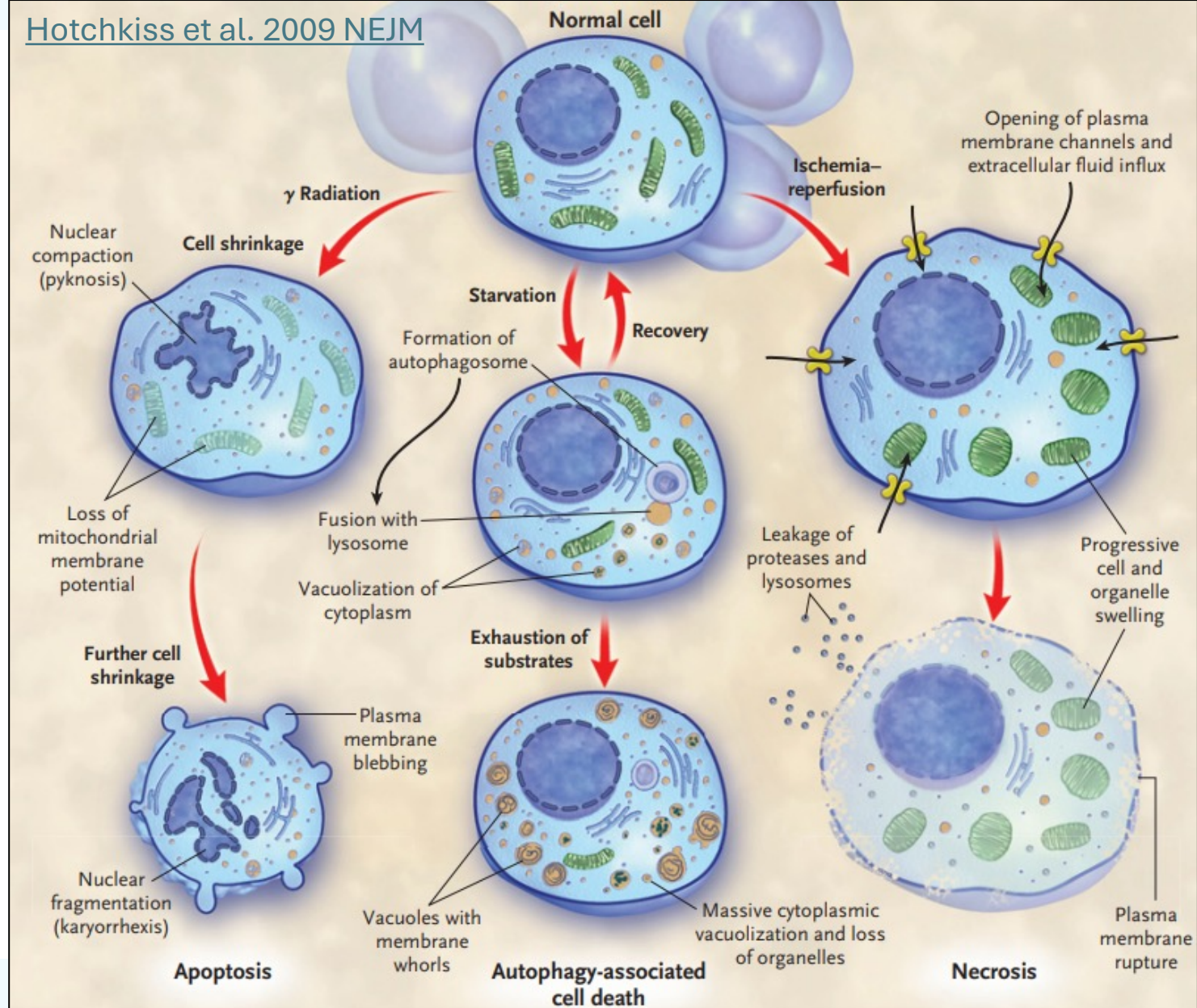
Κυτταρικός θάνατος (cell death):
Μη αναστρέψιμος εκφυλισμός ζωτικών κυτταρικών λειτουργιών ιδίως της παραγωγής ATP και της ομοιόστασης οξειδοαναγωγής που προκαλεί απώλεια της κυτταρικής ακεραιότητας

Απόπτωση

Νέκρωση

Αυτοφαγία

**Προγραμματισμένος
κυτταρικός θάνατος**



Είδη κυτταρικού θανάτου

Κυτταρικός θάνατος (cell death)

Τυχαίος κυτταρικός θάνατος (Accidental Cell Death, ACD): στιγμιαίος, ανεξέλεγκτος, προκαλείται μέσω αποσυναρμολόγησης της πλασματικής μεμβράνης λόγω ακραίων φυσικών, χημικών ή μηχανικών αιτιών

Νέκρωση

Ρυθμιζόμενος κυτταρικός θάνατος (Regulated Cell Death, RCD): Μορφή κυτταρικού θανάτου που προκύπτει από την ενεργοποίηση ενός ή περισσότερων μονοπατιών μεταγωγής σήματος, και ως εκ τούτου μπορεί να ρυθμιστεί φαρμακολογικά ή γενετικά

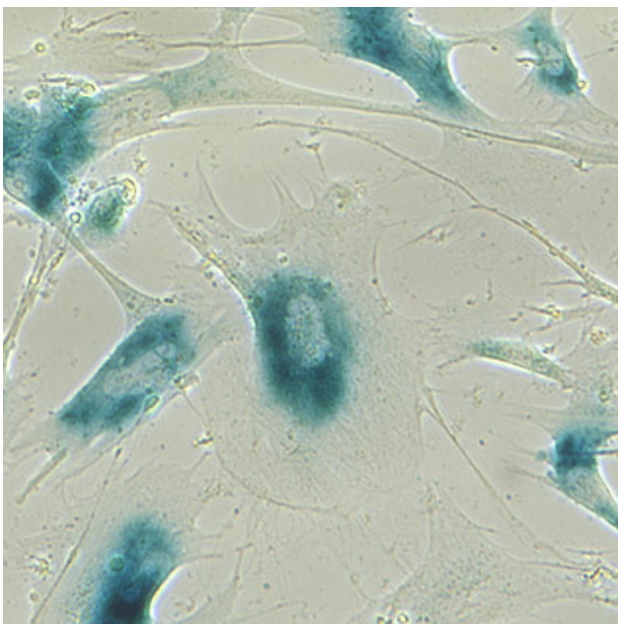
Απόπτωση

Νέκρωση

Αυτοφαγία

Είδη κυτταρικού θανάτου

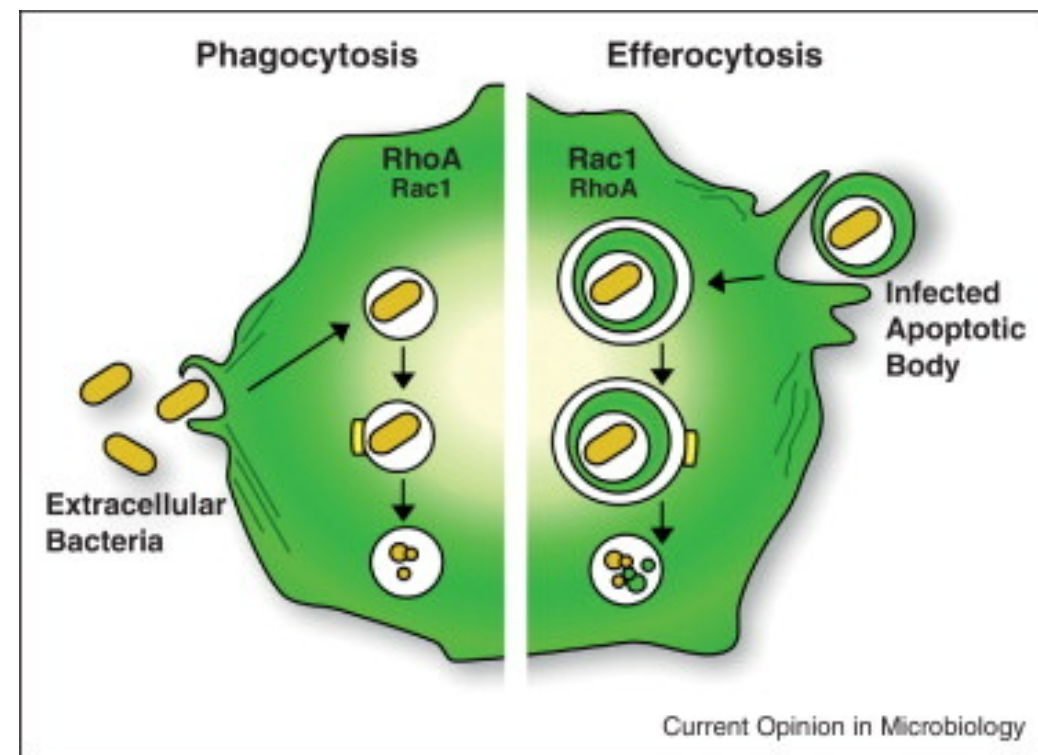
- **Κυτταρική γήρανση (cellular senescence):**
Μη αναστρέψιμη απώλεια της ικανότητας πολλαπλασιασμού με συγκεκριμένα μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά



nia.nih.gov

- Χαρακτηριστική θετική χρώση **β-γαλακτοσιδάσης**

- **Εφεροκυττάρωση (efferocytosis):**
απομάκρυνση αποπτωτικών κυττάρων από τα φαγοκύτταρα

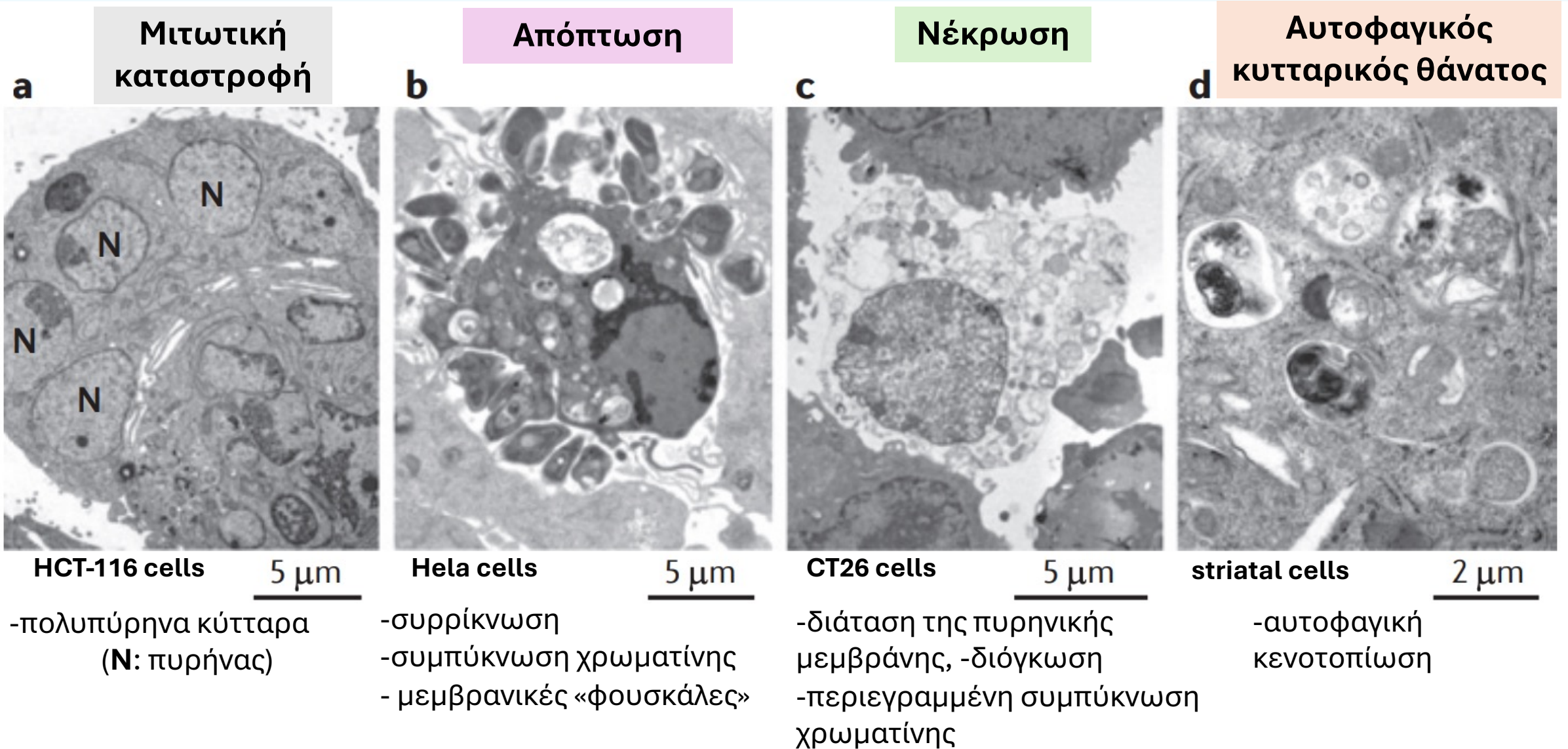


<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527413002014>

Είδη ρυθμιζόμενου κυτταρικού θανάτου

- **Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος (Programmed Cell Death, PCD):** Ιδιαίτερη μορφή RCD που εμφανίζεται σε αυστηρά φυσιολογικά σενάρια, δηλ. δεν σχετίζεται με διαταραχές της ομοιόστασης και ως εκ τούτου δεν εμφανίζεται στο πλαίσιο αποτυχίας προσαρμογής στο στρες
- **Μιτωτική καταστροφή (mitotic catastrophe):** Ογκοκατασταλτικός μηχανισμός για τον έλεγχο των ανίκανων για μίτωση κυττάρων με RCD ή κυτταρική γήρανση. Αυτή καθαυτή, η μιτωτική καταστροφή δεν αποτελεί μορφή RCD
- **Μιτωτικός θάνατος:** Ειδική παραλλαγή RCD (πιο συχνά, αναφέρεται σε ενδογενή απόπτωση) που προκαλείται από μιτωτική καταστροφή.

Μορφολογικές όψεις ρυθμιζόμενου κυτταρικού θανάτου



Είδη ρυθμιζόμενου κυτταρικού θανάτου

Νέκρωση που οφείλεται στη μετάβαση της διαπερατότητας των μιτοχονδρίων (ΜΔΜ) ή ΜΔΜ καθοδηγούμενη νέκρωση (Mitochondrial permeability transition [MPT]-driven necrosis): Ειδική μορφή RCD που προκαλείται από διαταραχές του ενδοκυτταρικού μικροπεριβάλλοντος και βασίζεται στην κυκλοφιλίνη D (cyclophilin D, CYPD)

Εξωγενής απόπτωση (extrinsic apoptosis): Ειδική παραλλαγή RCD που ξεκινά από διαταραχές του εξωκυτταρικού μικροπεριβάλλοντος που ανιχνεύονται από υποδοχείς πλασματικής μεμβράνης, μεσολαβείται από την κασπάση 8 και ολοκληρώνεται από τις κασπάσες εκτελεστές, κυρίως την κασπάση 3.

Ενδογενής απόπτωση (intrinsic apoptosis): Τύπος RCD που ξεκινά από διαταραχές του εξωκυττάρου ή ενδοκυτταρικού μικροπεριβάλλοντος, καθορίζεται από την διαπερατότητα της μιτοχονδριακής εξωτερικής μεμβράνης (mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP) και μεσολαβείται από τις κασπάσες εκτελεστές, κυρίως την κασπάση 3.

Ανοίκις («Αν-οίκ-ις»): Ειδική παραλλαγή της ενδογενούς απόπτωσης που ξεκινά από την απώλεια της εξαρτώμενης από την ιντεγκρίνη προσκόλλησης.

Ανοσογονικός κυτταρικός θάνατος (Immunogenic Cell Death, ICD): Μια μορφή RCD ικανού να ενεργοποιήσει μια προσαρμοστική ανοσοαπόκριση σε ανοσοεπαρκείς ξενιστές.

Είδη ρυθμιζόμενου κυτταρικού θανάτου

Κυτταρικός θάνατος που εξαρτάται από την αυτοφαγία ή αυτοφαγικός κυτταρικός θάνατος (Autophagy-Dependent Cell Death, ADCD): Μια μορφή ρυθμιζόμενου κυτταρικού θανάτου που εξαρτάται μηχανιστικά από τον αυτοφαγικό μηχανισμό.

 **Autosis:** Ειδική περίπτωση ADCD που βασίζεται στην μεμβρανική αντλία $\text{Na}^+\text{-K}^+$ (ή ATPάση $\text{Na}^+\text{-K}^+$).

Κυτταρικός θάνατος που εξαρτάται από το λυσόσωμα ή λυσοσωμικός κυτταρικός θάνατος (Lysosome-Dependent Cell Death, LDCD): Ένας τύπος RCD που καθορίζεται από την πρωτογενή διαπερατότητα της λυσοσωμικής μεμβράνης (lysosomal membrane permeabilization, LMP) και μεσολαβείται από τις καθεψίνες, με προαιρετική συμμετοχή των MOMP και κασπασών.

«ΕΠΟτικός Κυτταρικός θάνατος που εξαρτάται από τον σχηματισμό Εξωκυτταρικής Παγίδας Ουδετερόφιλων (ΕΠΟ) (Neutrophil Extracellular Trap, NET) (NETotic cell death): Μια εξαρτώμενη από τις δραστικές μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) μέθοδος RCD που περιορίζεται σε κύτταρα αιμοποιητικής προέλευσης και σχετίζεται με τον σχηματισμό NETs.

“Εντωτικός” κυτταρικός θάνατος (entotic cell death): Ένας τύπος RCD που προέρχεται από την εξαρτώμενη από ακτομυοσίνη ενδοκυττάρωση κυττάρου (έντωση [entosis]) και πραγματοποιείται από λυσοσώματα.

Είδη ρυθμιζόμενου κυτταρικού θανάτου

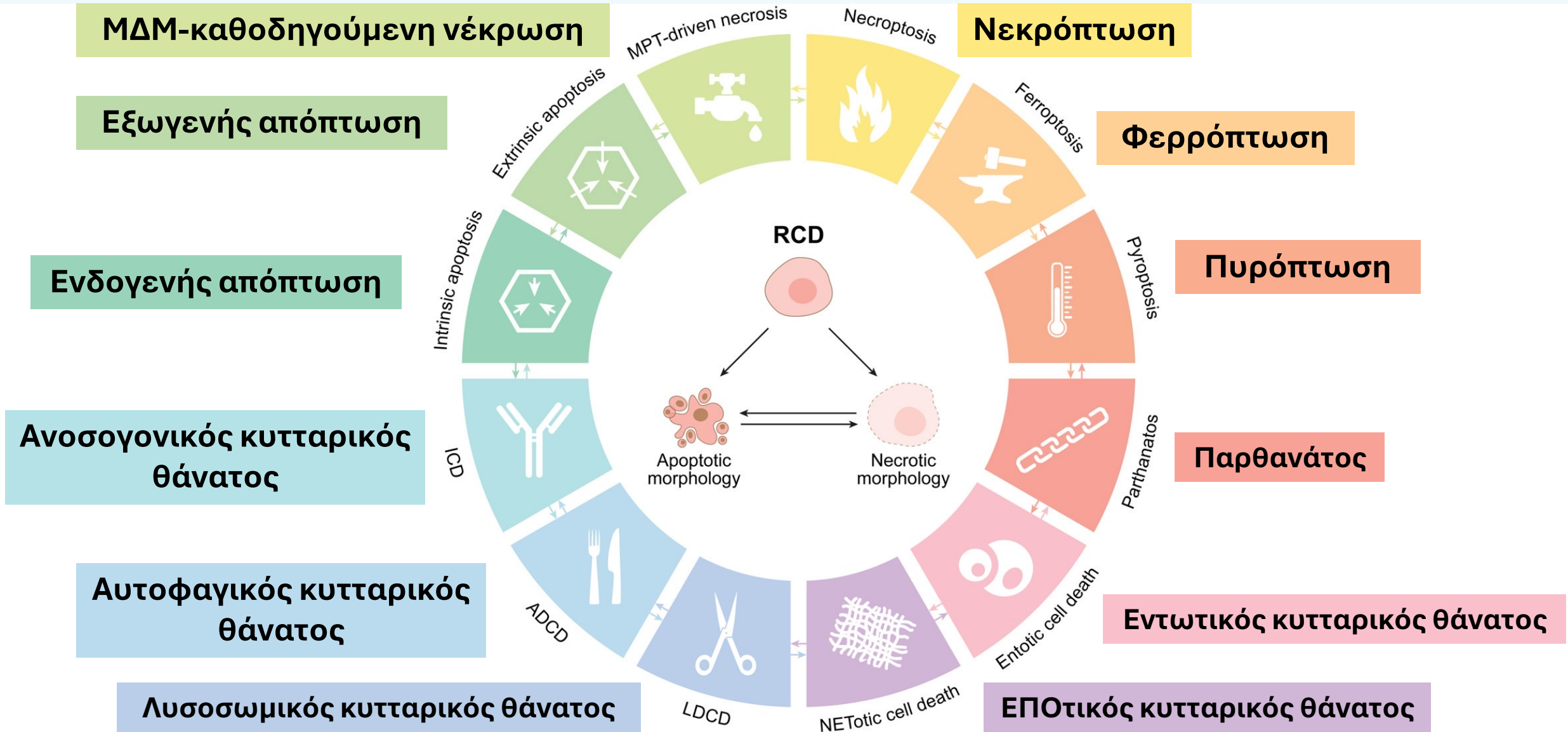
Νεκρόπτωση (necroptosis): Μια μέθοδος RCD που προκαλείται από διαταραχές της εξωκυτταρικής ή ενδοκυτταρικής ομοιόστασης που εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη δράση της κινάσης RIPK3 και της ψευδοκινάσης MLKL και σε ορισμένες περιπτώσεις από τη δράση της κινάσης RIPK1.

Φερρόπτωση (ferroptosis): Μια μορφή RCD που ξεκινά από οξειδωτικές διαταραχές του ενδοκυτταρικού μικροπεριβάλλοντος που ελέγχεται από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης 4 (GPX4, glutathione peroxidase 4) και μπορεί να ανασταλεί από χηλικούς παράγοντες σιδήρου και λιπόφιλα αντιοξειδωτικά.

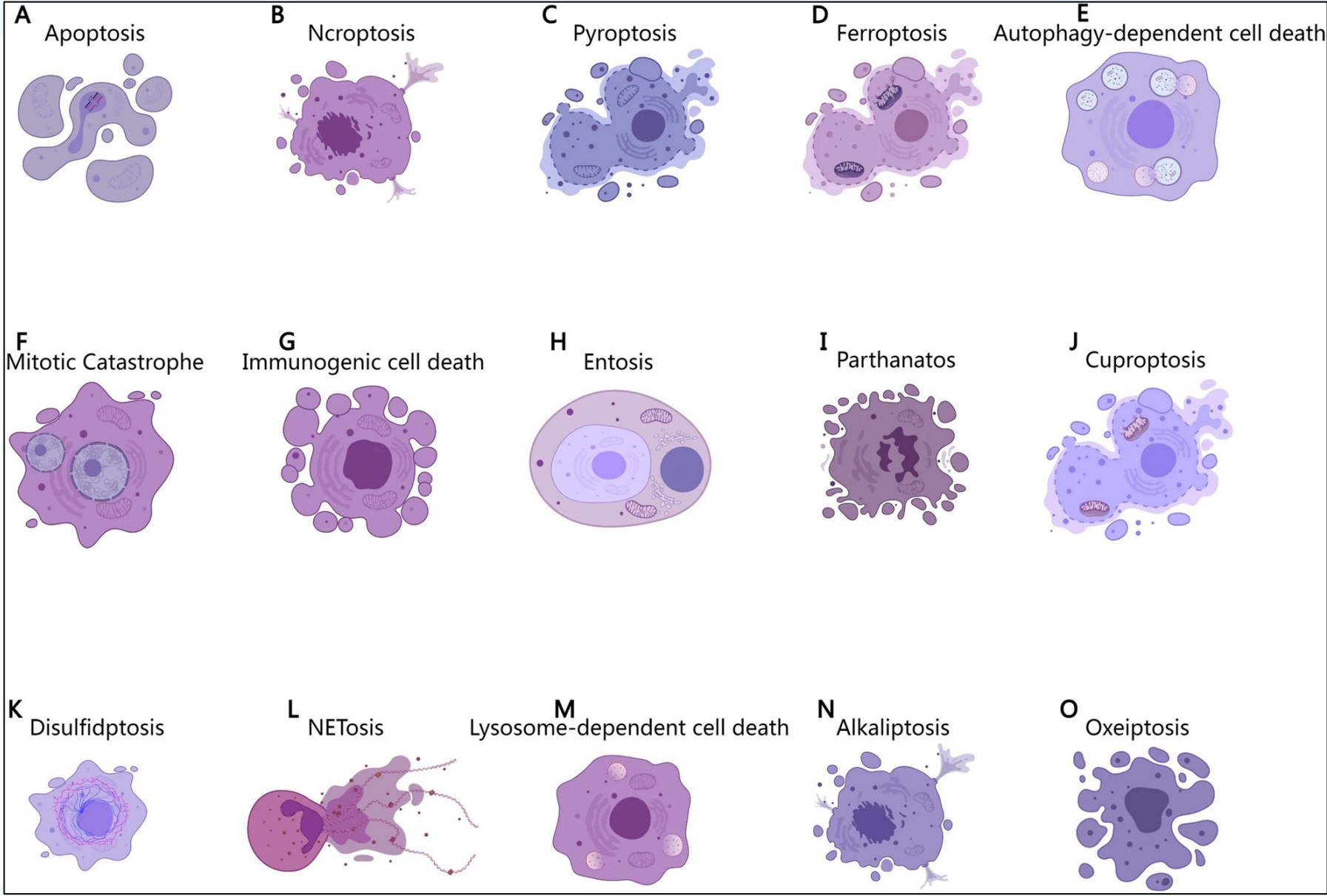
Πυρόπτωση (Pyroptosis): Ένας τύπος RCD που εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το σχηματισμό πόρων της πλασματικής μεμβράνης από μέλη της οικογένειας πρωτεϊνών gasdermin, συχνά (αλλά όχι πάντα) ως συνέπεια της ενεργοποίησης της φλεγμονώδους κασπάσης.

Παρθανάτος (Parthanatos, Poly(ADP-ribose) (PAR) polymer + thanatos): Μέθοδος RCD που ξεκινά από την υπερενεργοποίηση του ενζύμου PARP1 (poly[ADP-ribosyl] transferase 1) και μεσολαβείται από την επακόλουθη βιοενεργειακή καταστροφή συζευγμένη με την εξαρτώμενη από τους παράγοντες AIF (Apoptosis-Inducing Factor) και MIF (Macrophage Migration Inhibitory Factor) αποικοδόμηση DNA.

Βασικοί μηχανισμοί ρυθμιζόμενου κυτταρικού θάνατου



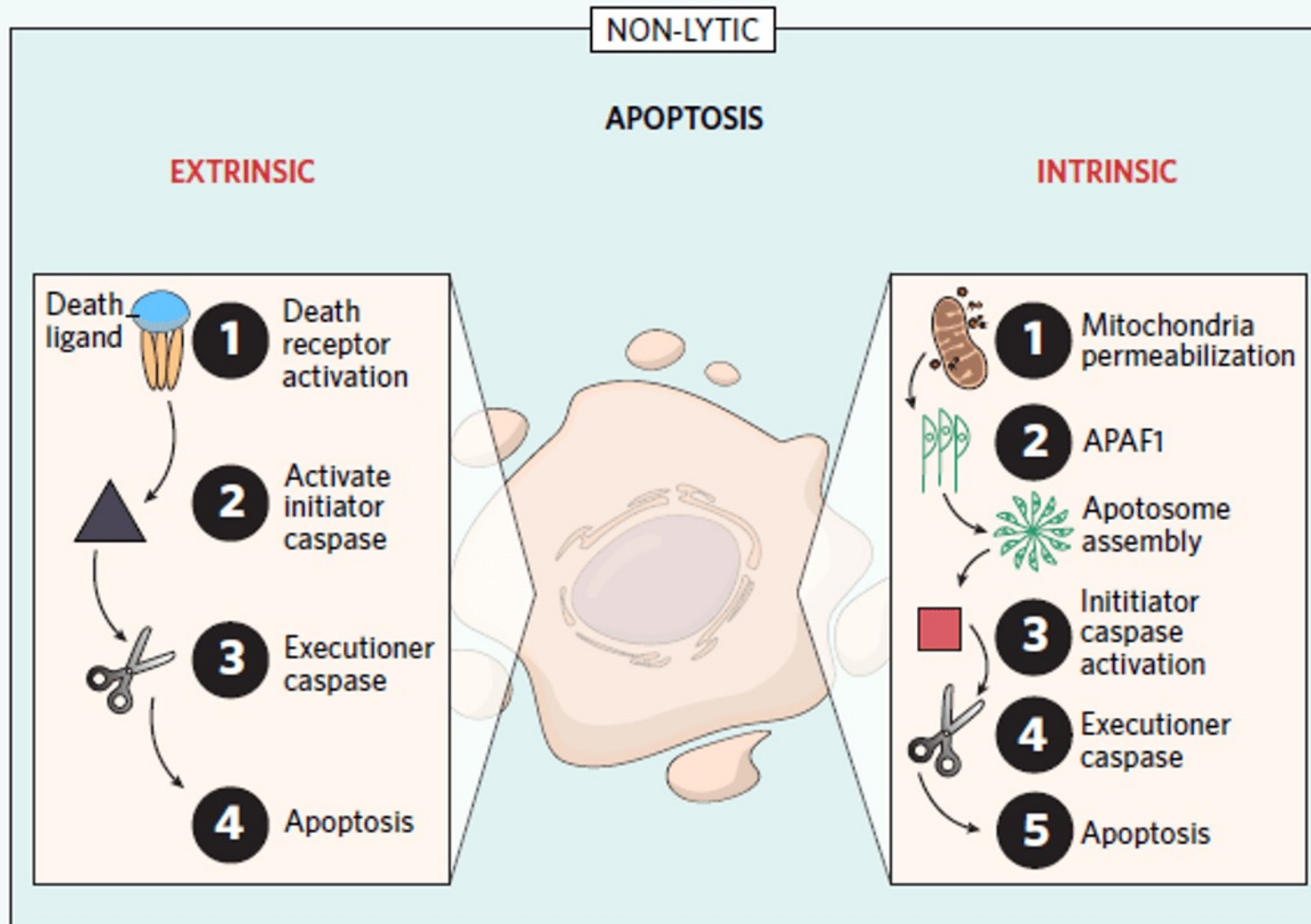
Μορφολογικά χαρακτηριστικά Προγραμματισμένου Κυτταρικού Θάνατου



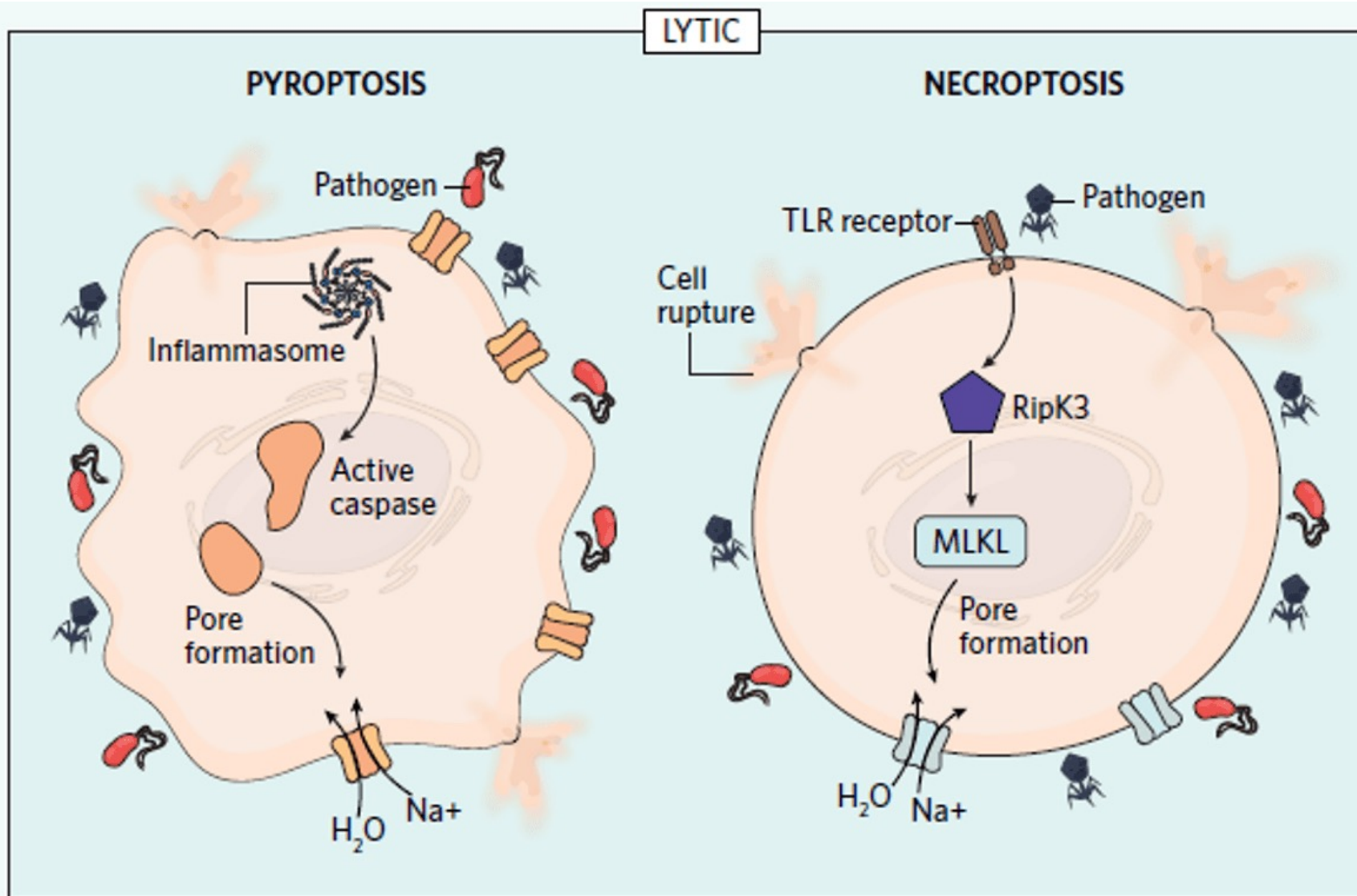
Research progress on morphology and mechanism of programmed cell death

<https://www.nature.com/articles/s41419-024-06712-8>

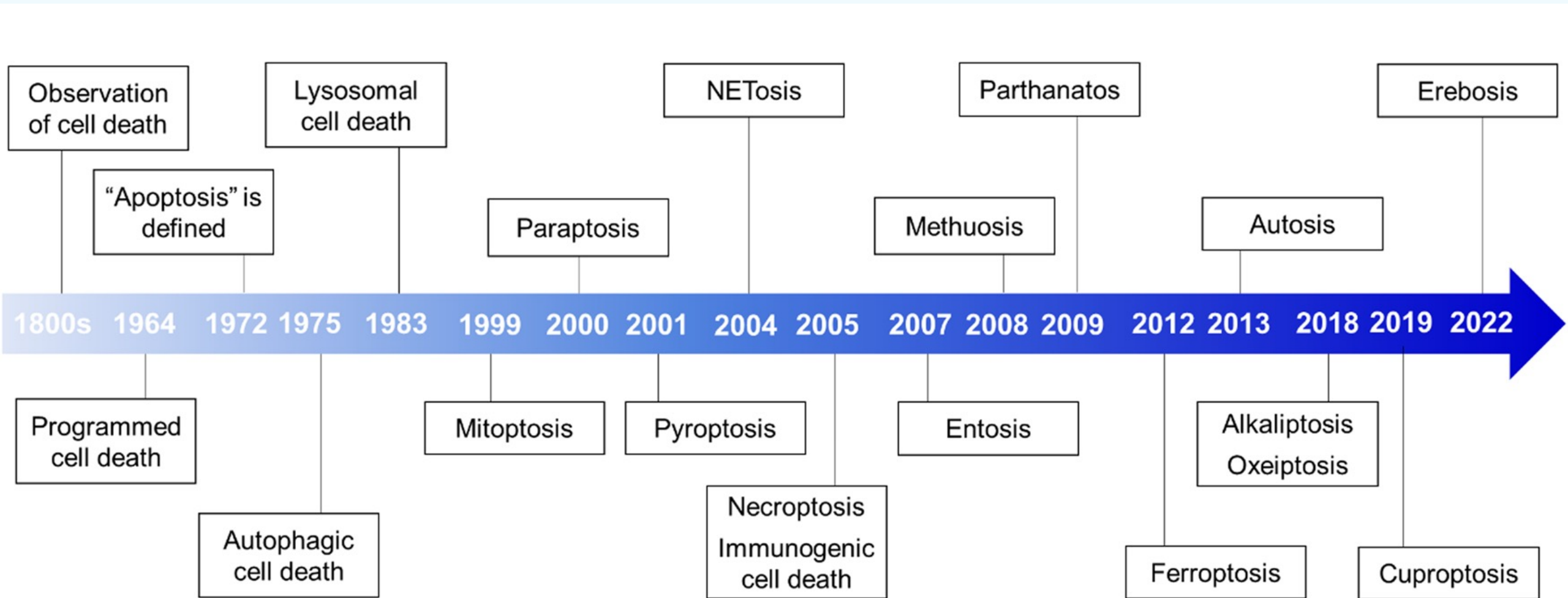
Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος



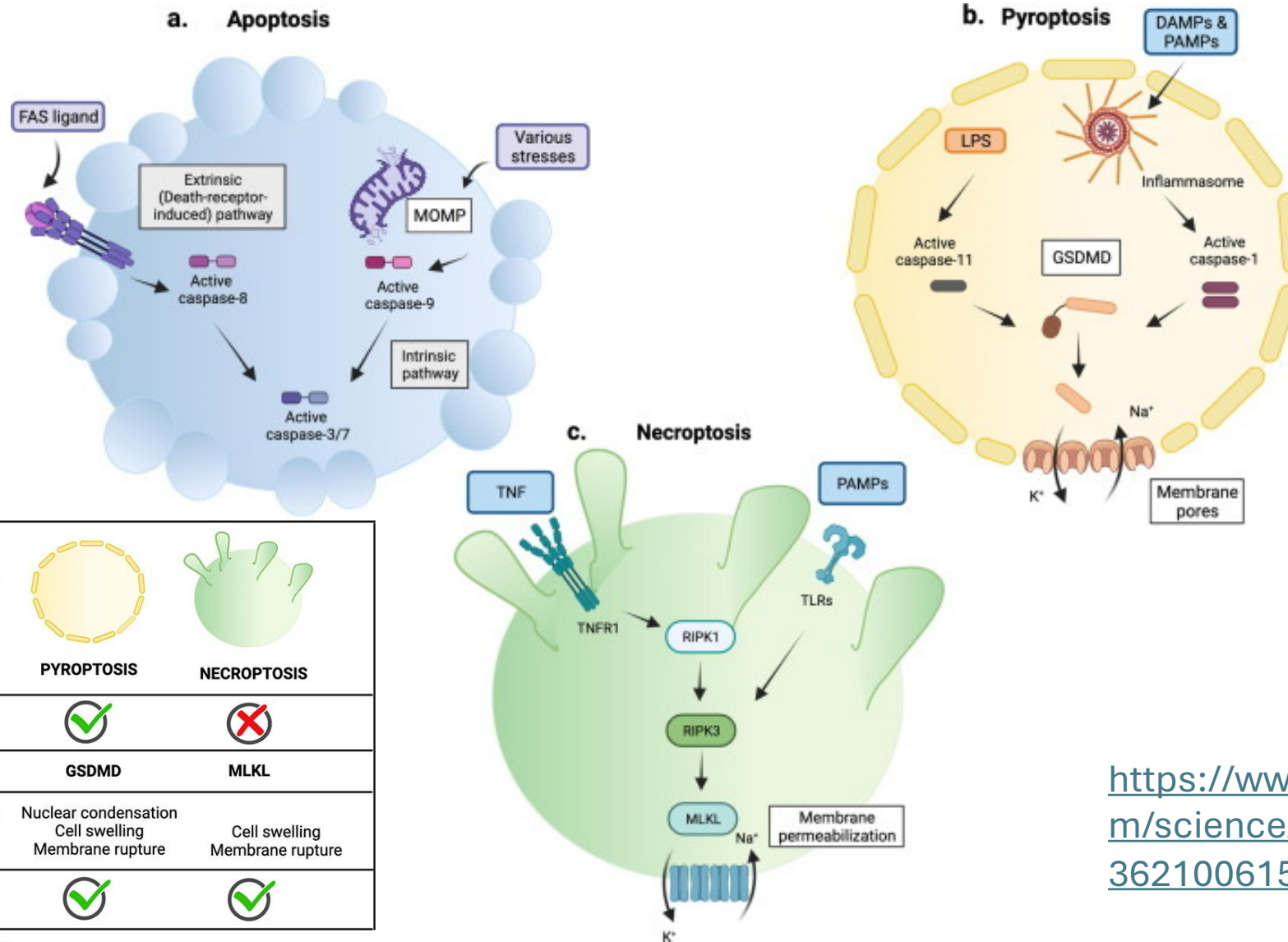
Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος


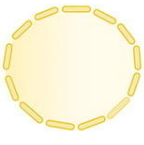



Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος



Επισκόπηση απόπτωσης πυρρόπτωσης και νεκρόπτωσης



			
	APOPTOSIS	PYROPTOSIS	NECROPTOSIS
Requires caspase activation	✓	✓	✗
Pore executioner protein	BAX/BAK	GSDMD	MLKL
Major features	Nuclear condensation	Nuclear condensation Cell swelling Membrane rupture	Cell swelling Membrane rupture
Inflammatory nature	✗	✓	✓

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002228362100615X?via%3Dihub>

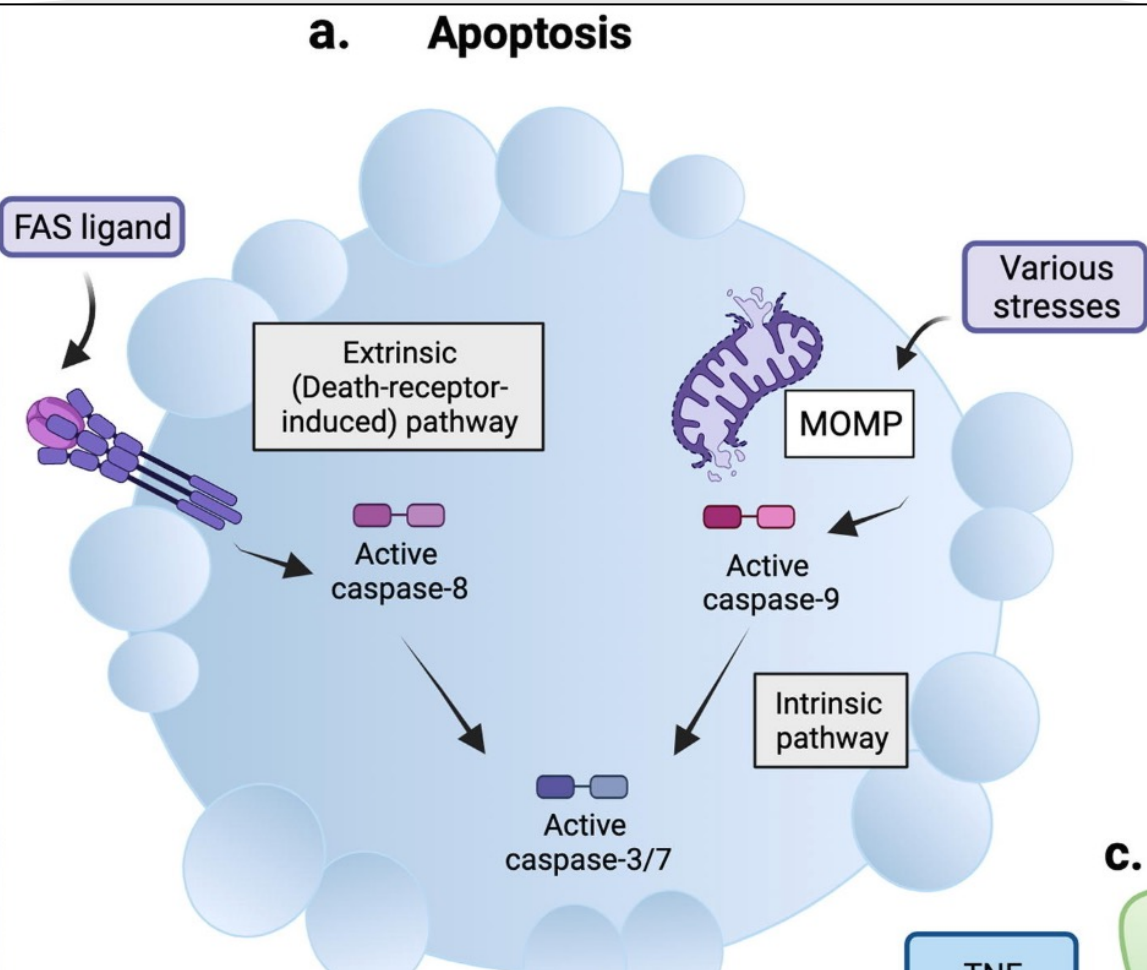
Επισκόπηση απόπτωσης

a. Apoptosis

b. Pyroptosis

DAMPs & PAMPs

a. Apoptosis



c.

Εξωγενές μονοπάτι:

1. Επαγωγή από **υποδοχείς θανάτου**
2. Ενεργοποίηση της εναρκτήριας **κασπάσης-8**

Ενδογενές ή μιτοχονδριακό ή ρυθμιζόμενο από την Bcl-2 μονοπάτι:

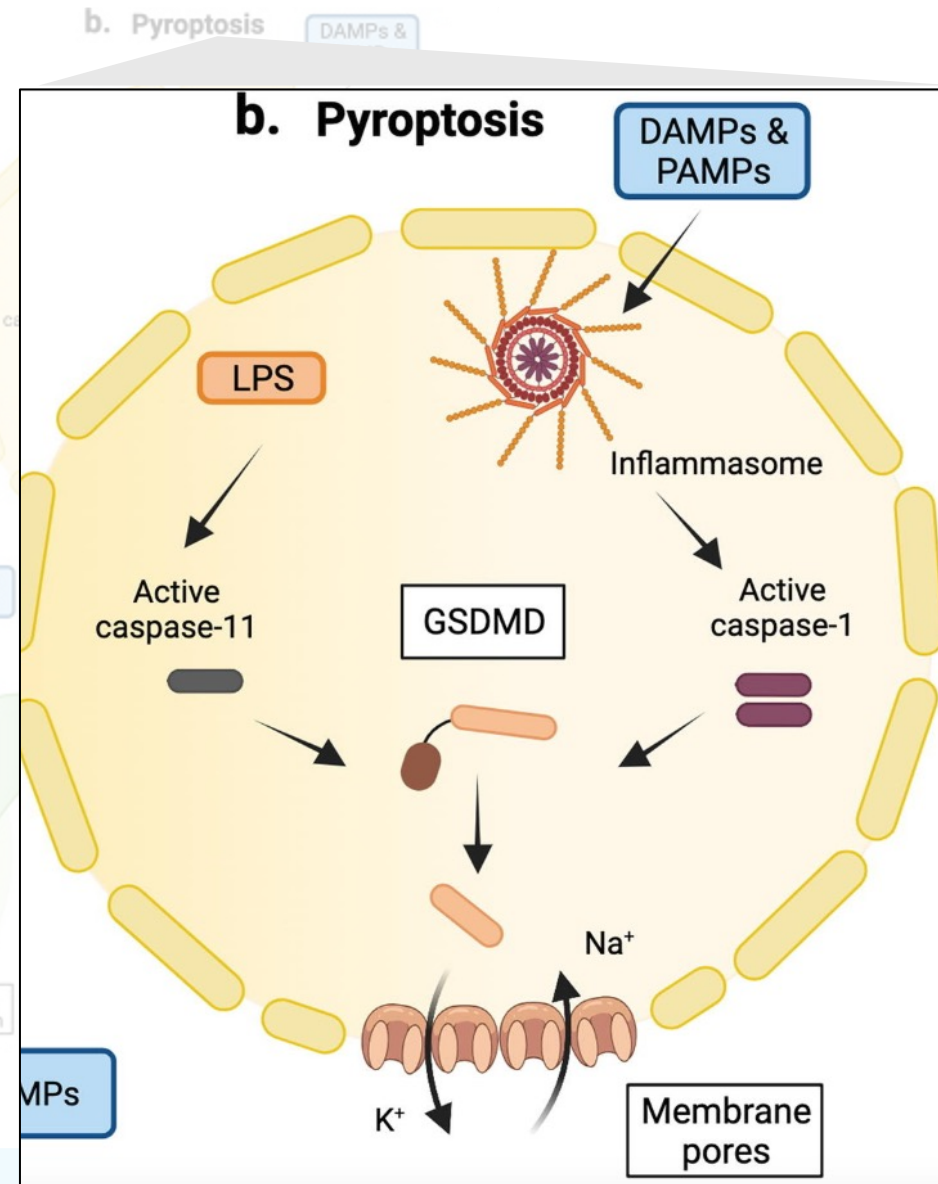
1. Επαγωγή από διάφορα ερεθίσματα στρες
2. Διαπερατότητα της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης (mitochondrial outer-membrane permeabilization, **MOMP**)
3. Απελευθέρωση **κυτοχρώματος c**
4. Σχηματισμός **αποπτωσώματος**
5. Ενεργοποίηση της εναρκτήριας **κασπάσης-9**

3./6...και τα δύο μονοπάτια συγκλίνουν στην **πρωτεολυτική ενεργοποίηση των κασπασών τελεστών -3 και -7**

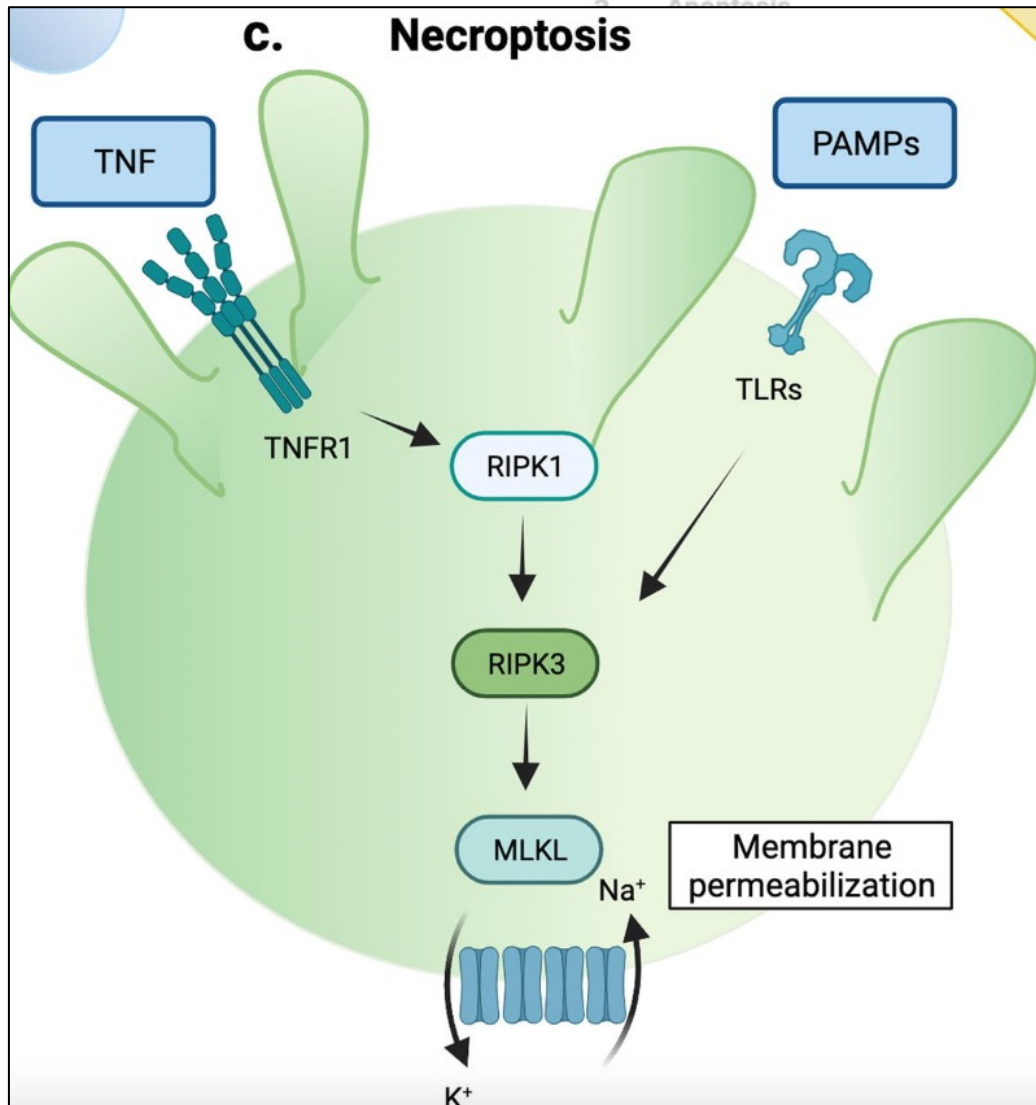
Επισκόπηση πυρόπτωσης

1. Ενεργοποίηση λόγω αναγνώρισης από το **φλεγμονόσωμα (inflammasome)** μοριακών μοτίβων που σχετίζονται είτε με βλάβη (damage-associated molecular patterns, **DAMPs**) είτε με παθογόνα (pathogen-associated molecular patterns, **PAMPs**)
2. Ενεργοποίηση **κασπάσης-1**
3. Η κασπάση-1 κόβει την gasdermin D (**GSDMD**) και το αποκομμένο N-τελικό άκρο της συναρμολογείται ως πόροι στην πλασματική μεμβράνη
4. Απώλεια της μεμβρανικής ακεραιότητας
5. Κυτταρική λύση

Εναλλακτικά η **GSDMD** κόβεται από την ενεργοποιούμενη από λιποπολυσακχαρίτες (lipopolysaccharide, **LPS**) κασπάση-11 στο ποντίκι ή -4 και -5 στον άνθρωπο



Επισκόπηση νεκρόπτωσης



1. Ενεργοποίηση των υποδοχέων **TNFR1** (TNF receptor 1) και **TLR** (Toll-like receptor)
2. Ενεργοποίηση των κινάσων σερίνης-θρεονίνης **RIPK1** και **RIPK3** (receptor-interacting serine-threonine kinases -1/-3)
3. Η κινάση RIPK3 φωσφορυλιώνει την ψευδοκινάση **MLKL** (mixed-lineage kinase domain-like)
4. Στερεοδιαμορφωτικές τροποποιήσεις της MLKL
5. Μετατόπιση και εισδοχή της MLKL στην κυτταρική μεμβράνη
6. Επαγωγή μεμβρανικής διάρρηξης (πιθανά λόγω σχηματισμού πόρων)

Μοριακοί μηχανισμοί απόπτωσης

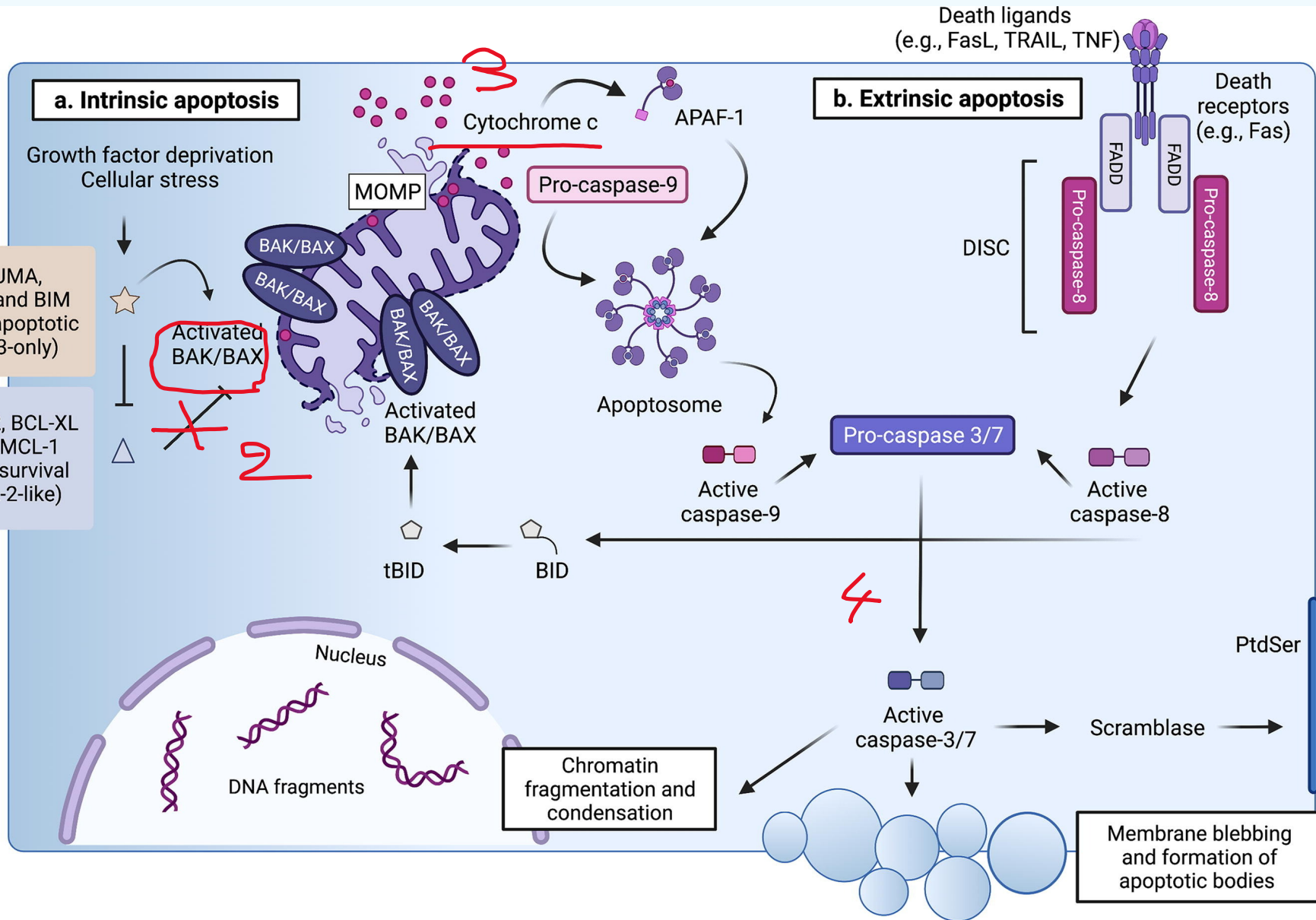
στέρση
αυξητικού
παράγοντα/
κυτταρικό
στρες

1

PUMA,
BID and BIM
(pro-apoptotic
BH3-only)

BCL-2, BCL-XL
and MCL-1
(pro-survival
BCL-2-like)

2



<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00228362100615X?via%3Dihub>

Μοριακοί μηχανισμοί απόπτωσης

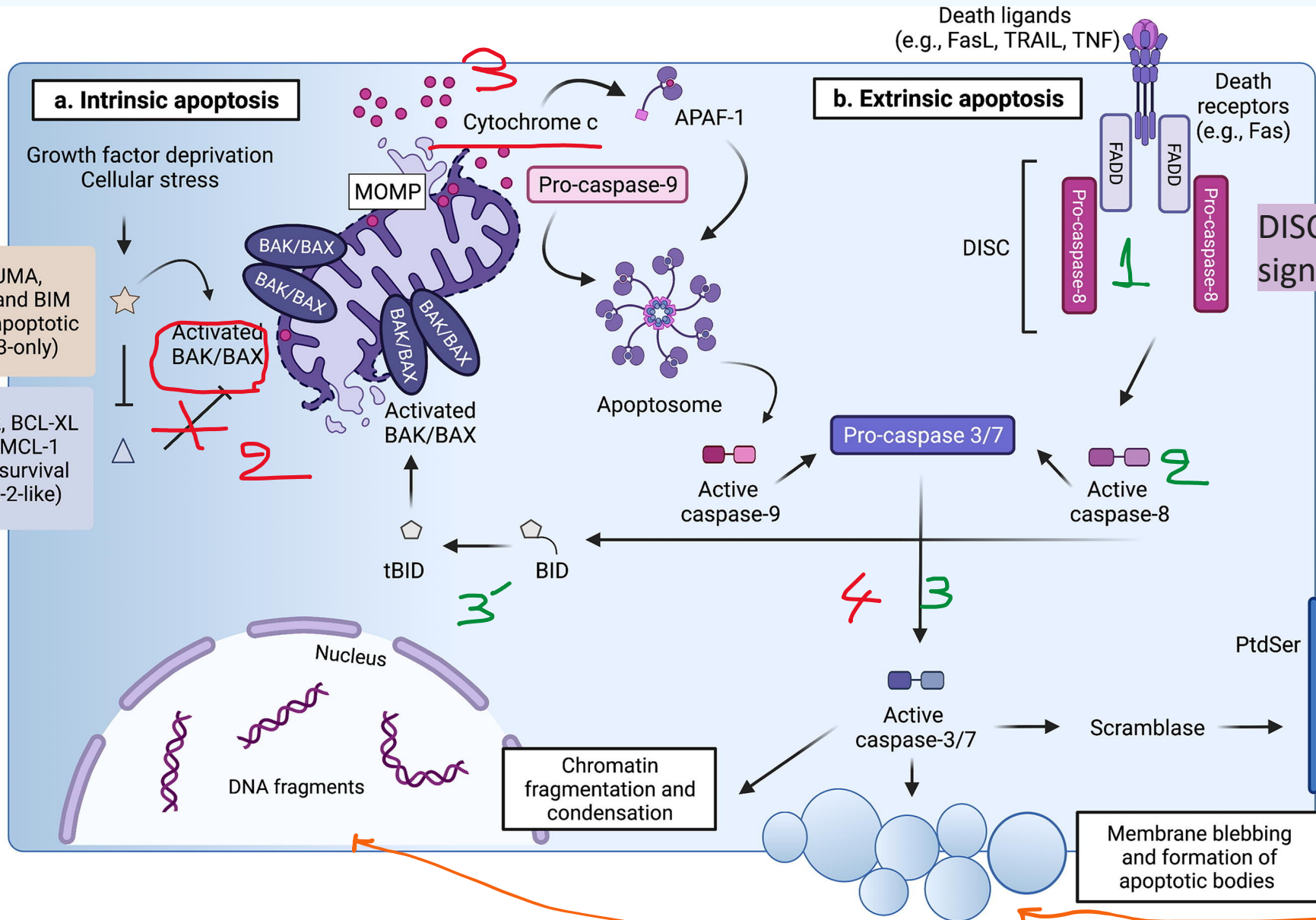
στέρση
αυξητικού
παράγοντα/
κυτταρικό
στρες

1

PUMA,
BID and BIM
(pro-apoptotic
BH3-only)

BCL-2, BCL-XL
and MCL-1
(pro-survival
BCL-2-like)

2



DISC: death-inducing
signaling complex

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00228362100615X?via%3Dihub>

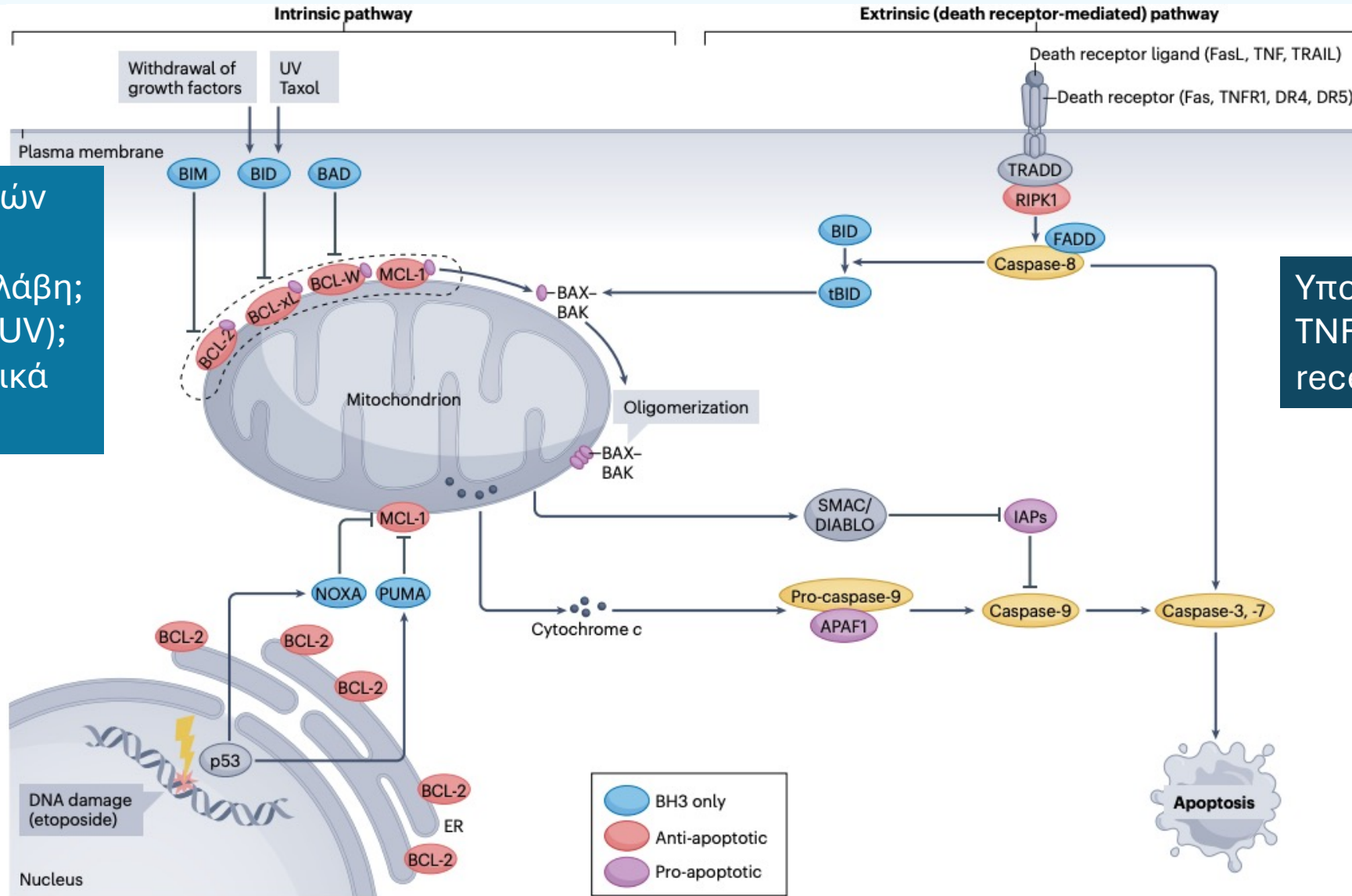
'Eat me'
signals

Αποπτωτικός
φαινότυπος

Ενδογενής και εξωγενής απόπτωση

Ενδογενής απόπτωση

Στέρηση αυξητικών παραγόντων;
μιτοχονδριακή βλάβη;
βλάβη του DNA (UV);
χημειοθεραπευτικά φάρμακα (Taxol)

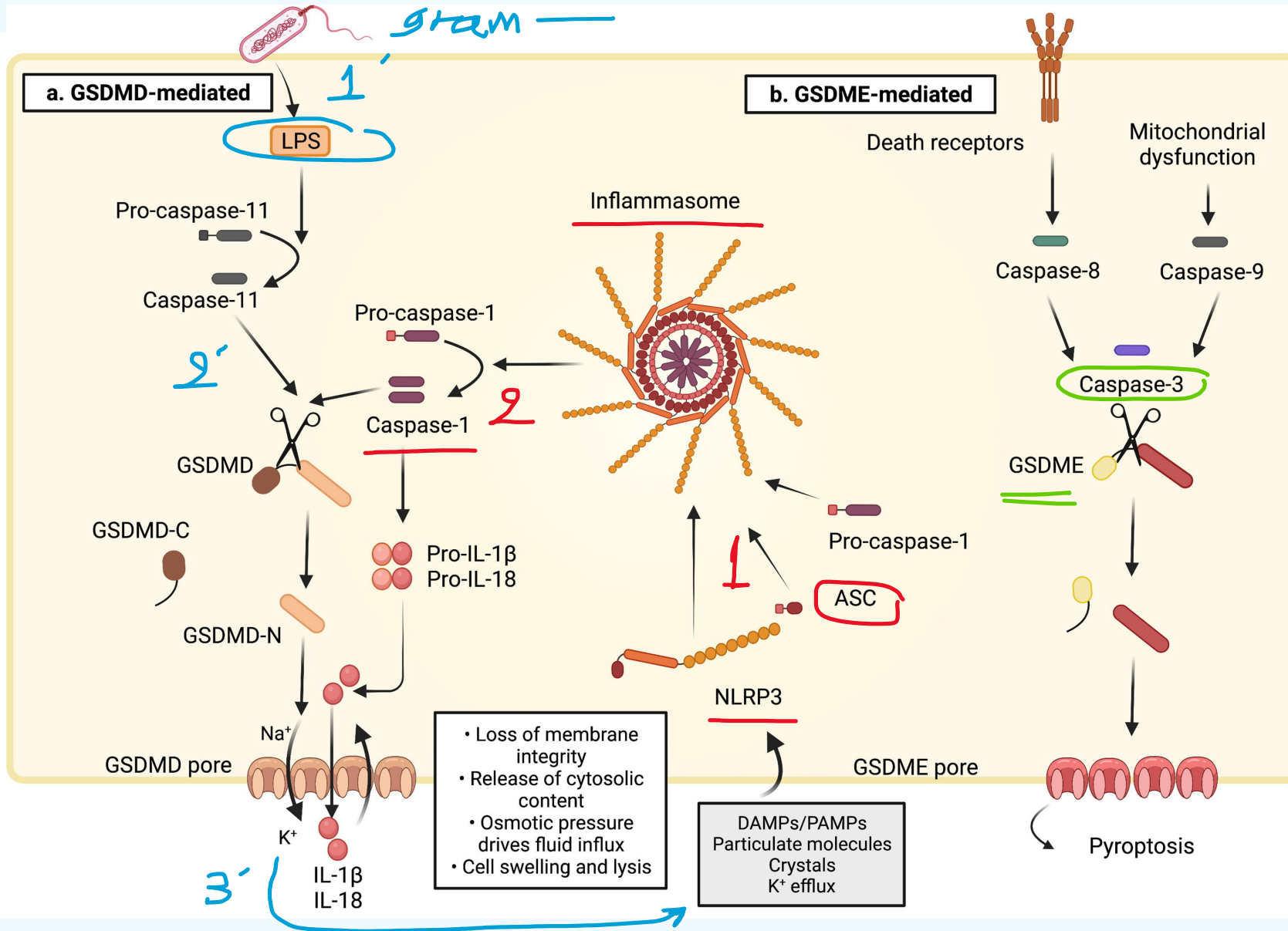


Εξωγενής απόπτωση

Συνδέτες:
TNF; FasL; TRAIL

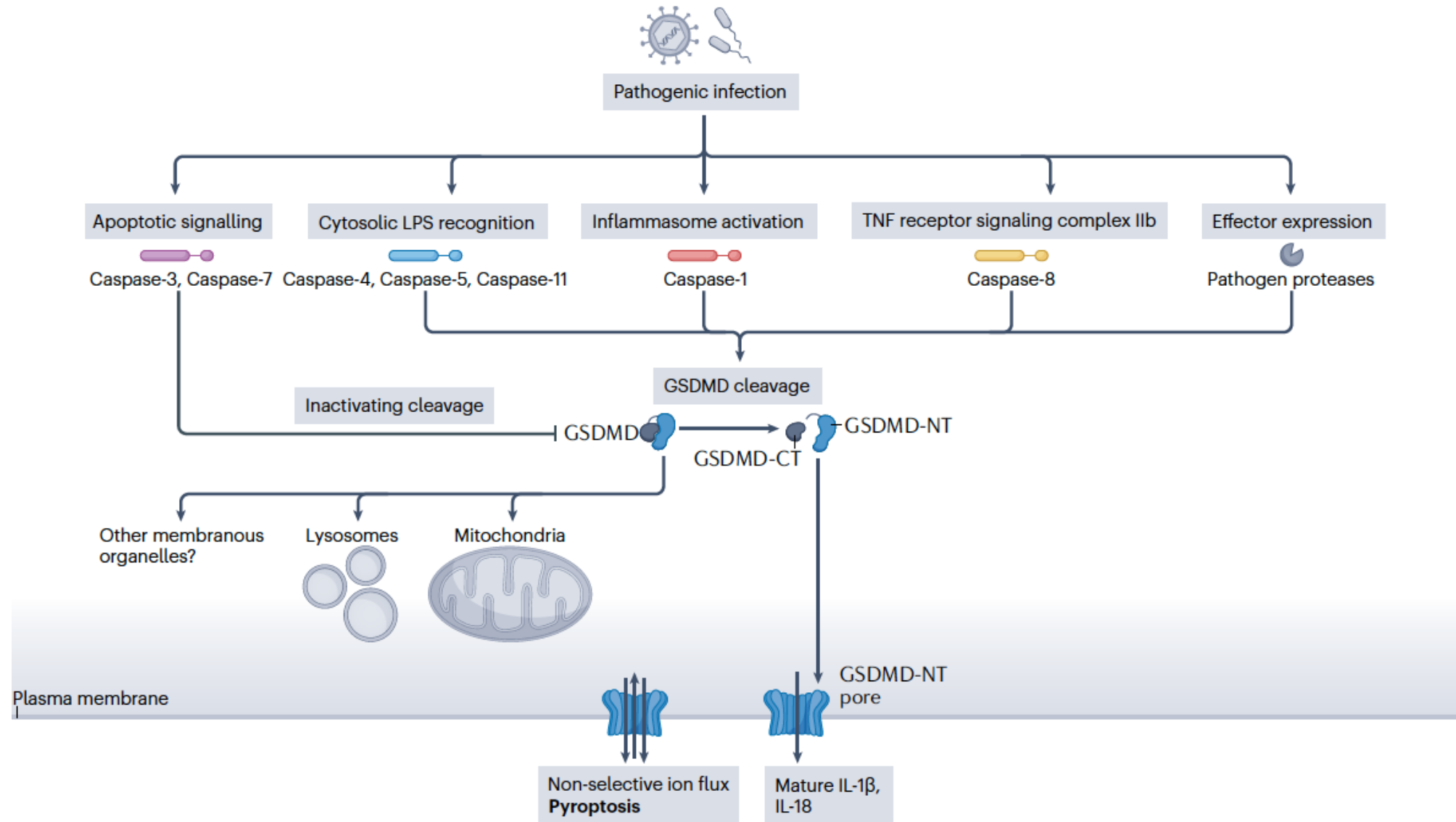
Υποδοχείς θανάτου:
TNFR1; Fas; TRAIL receptors, DR4 & DR5

Μοριακοί μηχανισμοί πυρόπτωσης

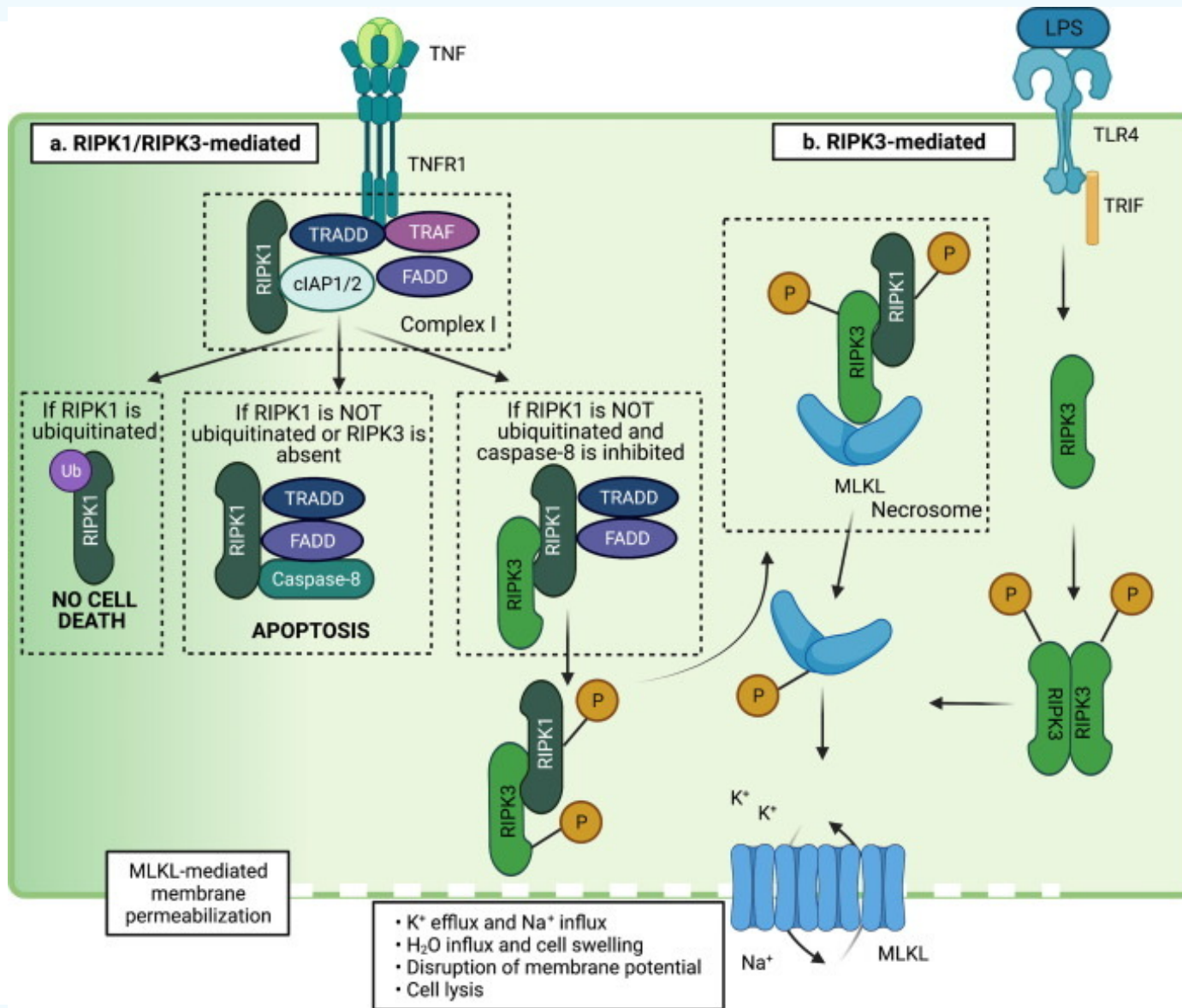


<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00228362100615X?via%3Dihub>

Πυρόπτωση

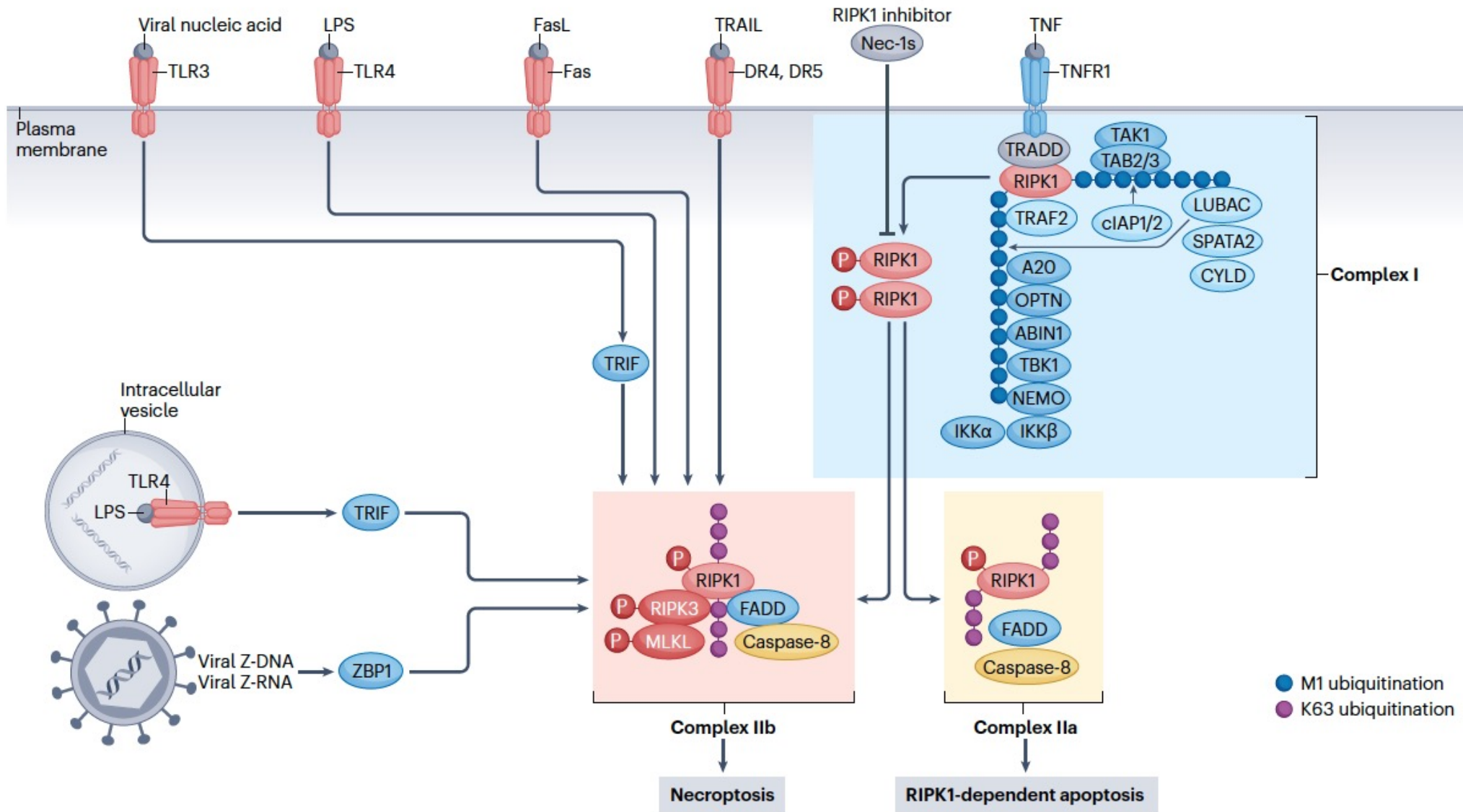


Μοριακοί μηχανισμοί νεκρόπτωσης

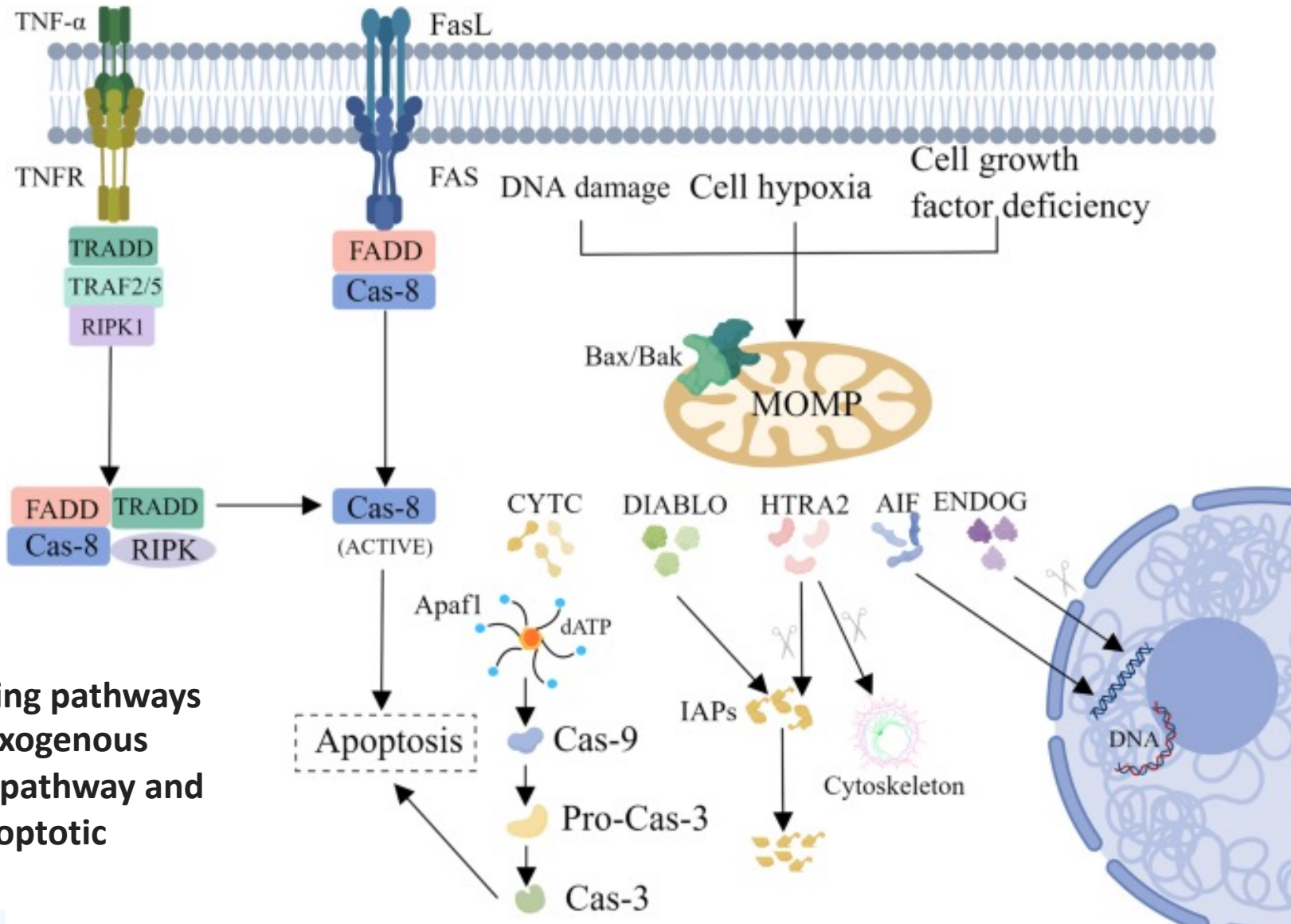


<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00228362100615X?via%3Dihub>

Νεκρόπτωση

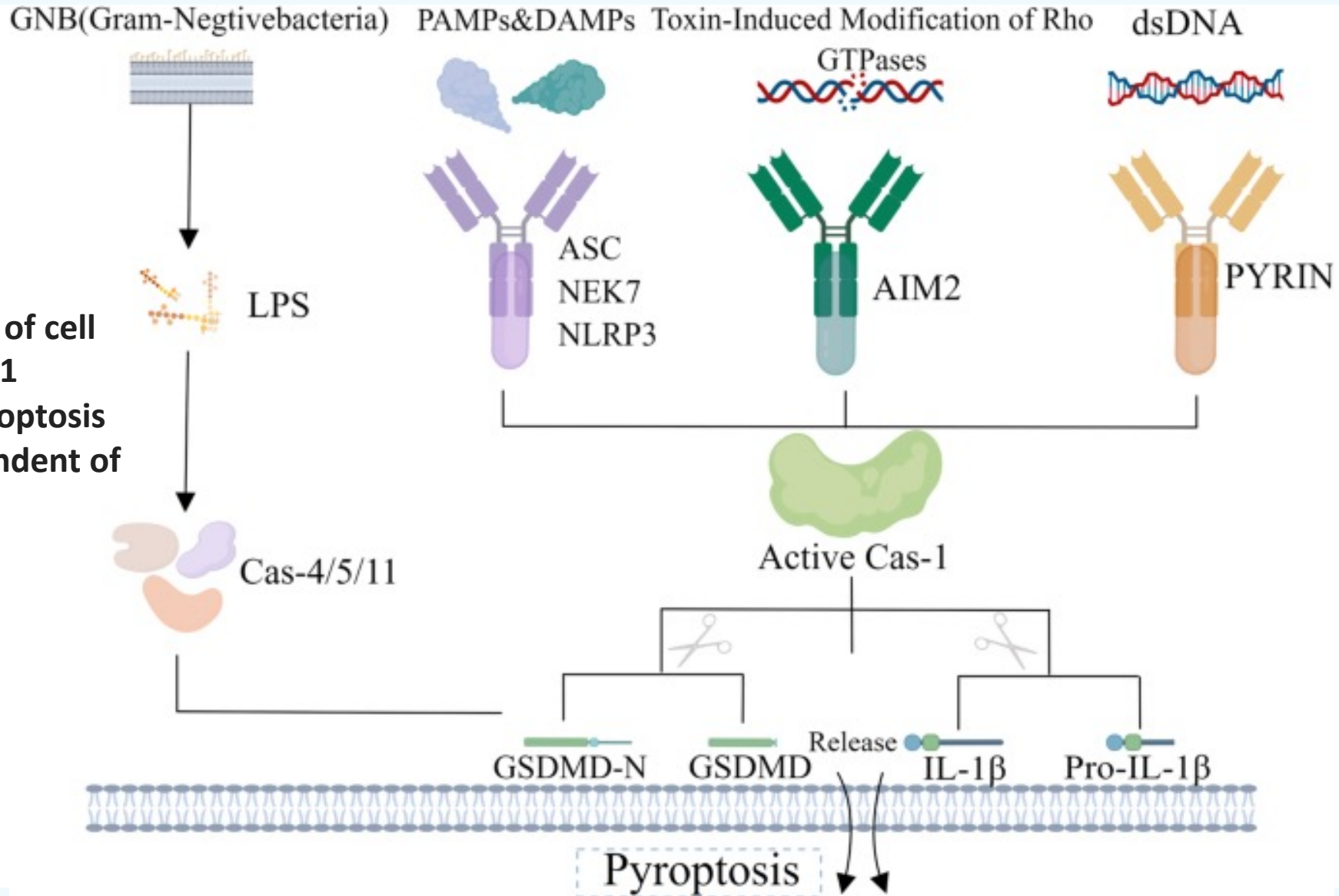


Μοριακοί μηχανισμοί απόπτωσης



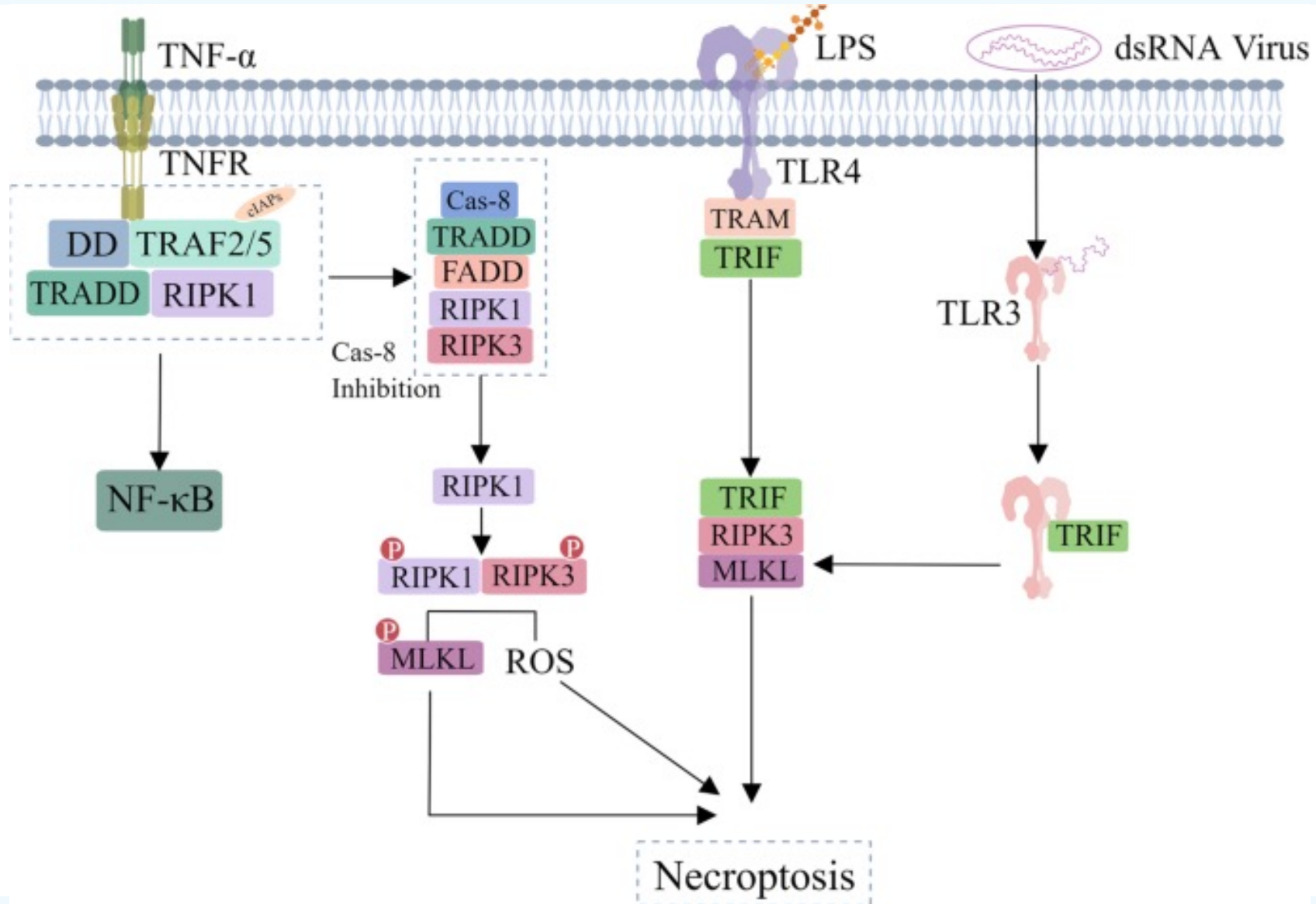
Two classical signaling pathways for apoptosis: the exogenous apoptotic signaling pathway and the endogenous apoptotic signaling pathway

Μοριακοί μηχανισμοί πυρόπτωσης

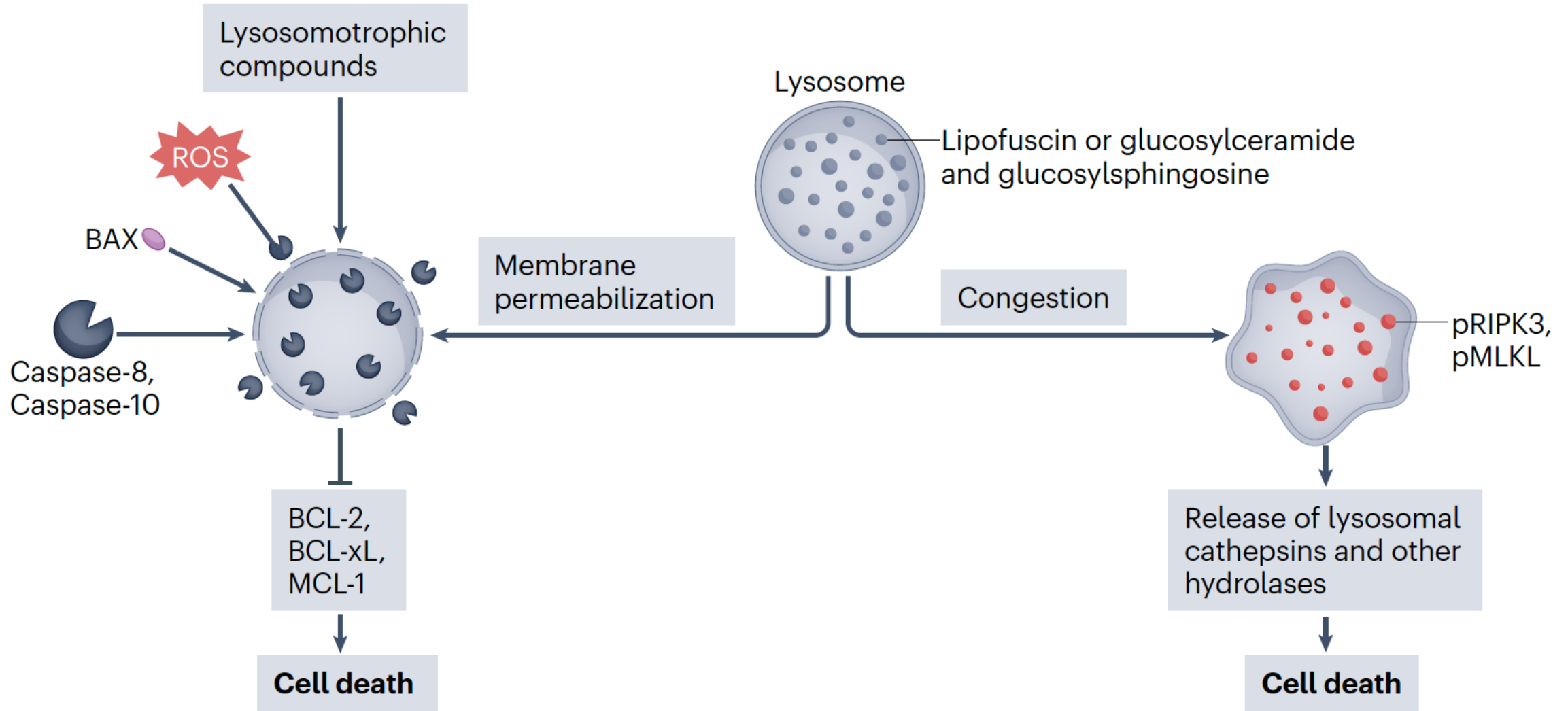


The signal pathway of cell pyroptosis: the cas-1 independent of pyroptosis and the cas-1 dependent of pyroptosis.

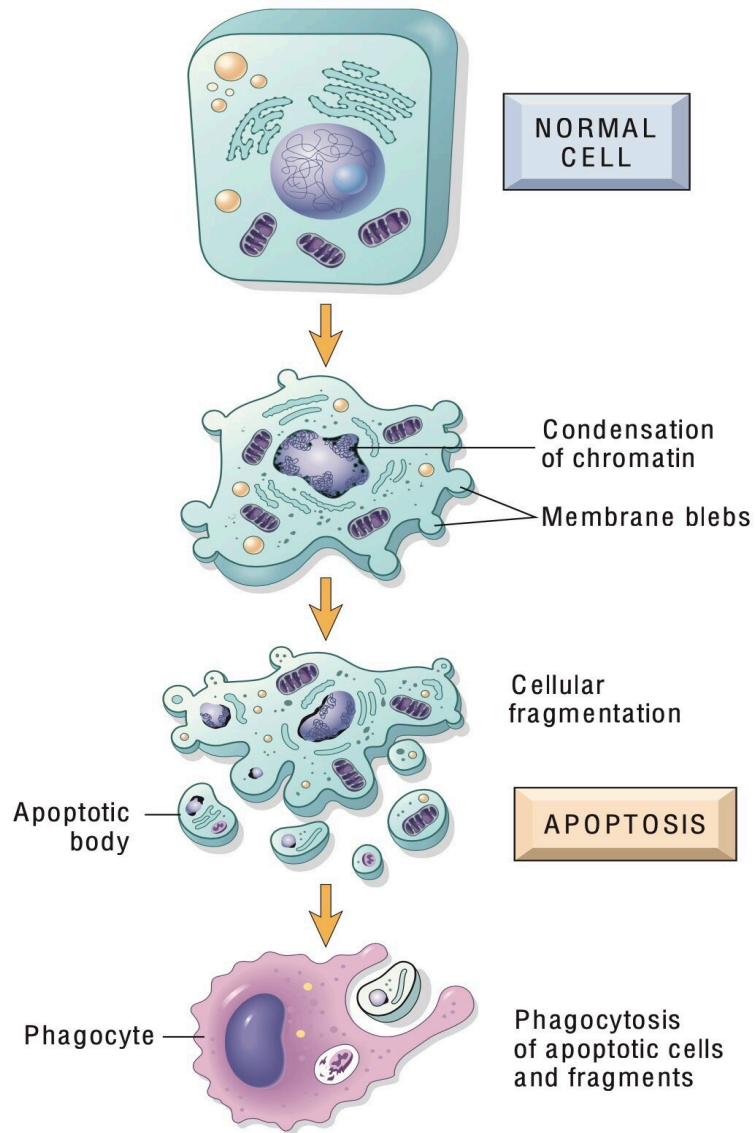
Μοριακοί μηχανισμοί νεκρόπτωσης



Λυσοσωμικός κυτταρικός θάνατος



Απόπτωση (1)



- **Many cells precisely control the time of their own death**
- **Programmed cell death or apoptosis (from Greek for "dropping off")**
- **Multiple triggering signals**
 - **Irreparable DNA damage**
 - **Entrance of cell into S-phase under abnormal conditions**
 - **Lack of growth factors**
 - **Death protein signaling pathways**

Απόπτωση (2)

- **Many cells precisely control the time of their own death**
- **Programmed cell death or apoptosis (from Greek for "dropping off")**
- **Multiple triggering signals**
 - Irreparable DNA damage
 - Entrance of cell into S-phase under abnormal conditions
 - Lack of growth factors
 - Death protein signaling pathways

Απόπτωση (3)

- **Characterized by changes in cell membrane, cytoskeleton & nuclear DNA**
- **Cytoplasmic proteases – caspases**
 - All are synthesized as inactive proenzymes
 - all have a critical Cys residue at the active site
 - all hydrolyze their target proteins on the C-terminal side of specific Asp residues (hence the name caspase, from Cys and Asp)

Απόπτωση (4)

- Apoptotic signal (TNF or Fas ligand) often comes from outside, through surface receptor (TNF-R1, Fas)
- Signal-binding sites on extracellular side & “death domain” that carries the self-destruct signal through membrane to cytosolic proteins (TRADD or FADD)
- FADD activates caspase 8 (initiator) → self-activation → mitochondrial release of cytochrome c & activation of effector caspases → protein degradation & activation of DNase → CELL DEATH

Ρύθμιση της απόπτωσης

- **Pro-apoptotic proteins**
 - p53, c-myc, E2F, Fas, Bax, Bad, Bak, Bcl-Xs
- **Anti-apoptotic proteins**
 - Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w, MCL-1, p35

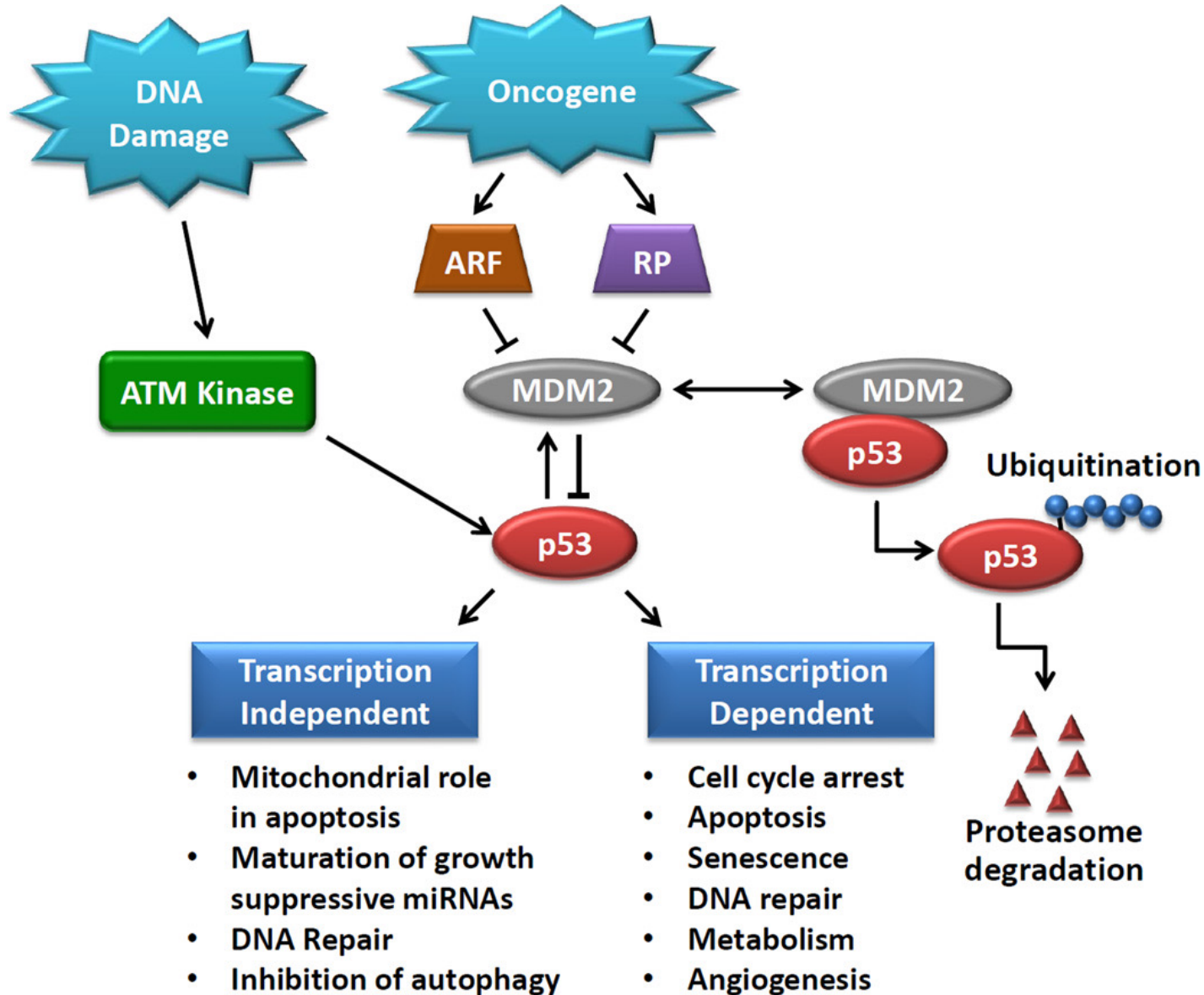
Ενδογενές μονοπάτι

- **Controlled by Bcl-2 concentration in mitochondrial membrane**
 - **Anti-apoptotic – Bcl-2, Bcl-XL**
 - **Pro-apoptotic forming pores – Bax, Bak**
 - **Pro-apoptotic enhancing apoptosis – Bid, Bad**

Εξωγενές μονοπάτι

- Binding of **FasL, TNF** to their respective **death Receptor (Fas, TNFR)**
- **Receptor Activation and Oligomerization**
- **DISC Formation** and recruitment of adaptor proteins like FADD and initiator caspases: pro-caspase-8/-10
- **Activation via cleavage of initiator caspases:** (active caspases-8/-10)
- Activation of executioner caspases -3/-7
- Cell death through proteolysis of cellular substrates
- **FLICE-inhibitory protein (FLIP) can inhibit caspase-8 activation by binding to FADD**
- **IAP (Inhibitor of Apoptosis Proteins), such as XIAP, bind and inhibit directly caspases**

The MDM2-p53 auto-regulatory feedback loop



The MDM2-p53 auto-regulatory feedback loop

- Under normal conditions, p53 concentration remains low via MDM2-mediated ubiquitination & proteasomal degradation
- DNA-damage induces p53 phosphorylation and stabilization
- Oncogenes such as c-Myc can activate p53 through p14ARF-MDM2-p53 pathway
- Arf-mediated mechanism may represent a safety valve for blocking cell division under unfavourable conditions even though the cell has triggered the process of division
- Increased p53 activity leads to cell cycle arrest or apoptosis

Targeting apoptosis in cancer therapy

