

ОБЗОРЫ

УДК 612.398.145.3

14.03.03 Патологическая физиология

DOI: 10.37903/vsgma.2021.1.7

ВИДЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ И ГИБЕЛИ НЕРВНЫХ КЛЕТОК

© Бонь Е.И., Максимович Н.Е.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, 230009, ул. Горького, 80**Резюме*

Цель. Обобщение и систематизация данных литературы о видах повреждения и гибели нервных клеток.

Методика. Основой данного исследования стал обзор литературы по данной теме.

Результаты. При развитии процесса нейродегенерации происходит гибель преимущественно нервных клеток и активация глиального компонента нервной ткани. Подавляющее большинство нейронов при развитии нейродегенеративного процесса погибает не от прямого воздействия летального фактора, хотя его действие на начальных этапах не исключено, а в результате постепенного истощения защитных механизмов и активации программы самоуничтожения.

Заключение. Изучение видов и механизмов реализации клеточной гибели является важным и актуальным при проведении клинических исследований, экспериментальном моделировании и диагностике нейродегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: нейродегенерация, нейроны, виды клеточной гибели, апоптоз, некроз, аутофагическая гибель, сенесценция, митотическая катастрофа

TYPES OF DAMAGE OF NERVOUS CELLS

Bon E.I., Maksimovich N.E.

*Grodno State Medical University, 80, Gor'kogo St., 230009, Grodno, Republic of Belarus**Abstract*

Objective. Generalization and systematization of literature data on the types of damage and death of nerve cells.

Methods. The basis of this study was a review of the literature on this topic.

Results. With the development of the process of neurodegeneration, death of predominantly nerve cells and activation of the glial component of the nervous tissue occur. The vast majority of neurons during the development of the neurodegenerative process does not die from direct exposure to the lethal factor, although its effect at the initial stages is not excluded, but as a result of the gradual depletion of protective mechanisms and activation of the self-destruction program.

Conclusions. The study of the types and mechanisms of the implementation of cell death is important and relevant when conducting clinical studies, experimental modeling and diagnosis of neurodegenerative diseases.

Keywords: neurodegeneration, neurons, types of cell death, apoptosis, necrosis, autophagic death, senescence, mitotic catastrophe

Введение

Актуальным для адекватной характеристики повреждения нейронов и глиии является оценка видов их гибели. Существует несколько видов клеточной смерти: апоптоз, аутофагическая гибель, сенесценция, некроз и митотическая катастрофа [1-10].

Сенесценция является формой остановки клеточного цикла в эмбриогенезе, росте опухоли, при старении. В период антенатального онтогенеза находящиеся в состоянии сенесценции клетки апикального эктодермального гребня и нервной пластинки обеспечивают процессы роста и дифференцировки нервной ткани. Имеются предположения, что сенесценция является запрограммированным механизмом, обеспечивающим развитие организма [1, 8, 10].

Для аутофагии характерны деструктивные изменения органелл, вызванные аутофагосомами. Морфологически аутофагическая гибель проявляется частичной конденсацией хроматина, пикнозом ядра, появлением аутофагосом и аутофаголизосом, деформацией аппарата Гольджи, расширением цистерн эндоплазматической сети, а также увеличением проницаемости мембран митохондрий. При данном типе клеточной гибели не наблюдается фрагментации ядра и клетки, отсутствует деградация ДНК до нуклеосомного уровня, характерна сохранность цитоскелета, в отличие от апоптоза отсутствует активация каспаз. Активирующими факторами аутофагической гибели клетки являются: недостаток питательных веществ, наличие поврежденных органелл, белков с измененной структурой вследствие окислительного или токсического стресса, как реакция на голодание, при реализации реакций иммунной защиты [1, 11, 12].

Митотическая катастрофа – особая форма гибели клеток с признаками патологии митоза – отставанием хромосом в мета- и анафазе, наличием мультиполюсных и многогрупповых мета- и анафаз. Данный тип клеточной смерти появляется как в процессе митоза, так и в интерфазе.

Наиболее частой причиной митотической катастрофы является нарушение функционирования G₂-чекпойнта – контрольной точки при переходе из фазы G₂ к митозу. Это определяет судьбу клетки в зависимости от эффективности репликации ДНК. Нарушения взаимодействия белков чекпойнта приводят к гибели клеток при прохождении митоза вследствие невозможности восстановления повреждений ДНК. Другой механизм, ведущий к митотической катастрофе – повреждение микротрубочек и изменение веретена деления. Этот процесс можно моделировать с использованием колхицина, винбластина или винкристина.

Аномалии митоза могут быть причиной образования жизнеспособных полиплоидных клеток или гибели с участием каспаз. В таких клетках наблюдаются микро- и многоядерность. При митотической катастрофе обычно отсутствуют межнуклеосомные разрывы ДНК, выявляемые TUNEL-методом. Образование одного или нескольких микроядер является морфологическим маркером митотической катастрофы. Однако при апоптозе и некрозе подобные структуры также могут обнаруживаться.

Митотическая катастрофа может быть выявлена с помощью световой и электронной микроскопии, а также иммуногистохимических методов, позволяющих изучать распределение маркеров p53, Ki-67, пеницетрина, гамма-тубулина. Митотическая катастрофа инициируется нарушением функционирования митотического аппарата во время M-фазы клеточного цикла [1, 13].

Апоптоз – запрограммированная смерть клетки. Явление апоптоза играет важную роль в разрушении клеток в процессе эмбрио- и органогенеза, а также при инволюции органов и тканей в стареющем организме, при иммунном ответе и других процессах. Апоптоз является энергозависимым процессом [1, 14-17].

Цель обзора – обобщение и систематизация данных литературы о видах повреждения и гибели нервных клеток.

Структурные особенности апоптоза

При апоптозе происходит уменьшение размеров клетки, цитоплазма становится более плотной, органеллы располагаются ближе друг к другу под действием энзима фермента транскляминазы. Хроматин становится более плотной, наблюдается распад ядра, а затем и всей клетки на отдельные фрагменты – апоптотические тельца.

Физиологическая роль апоптоза: 1) контролирует численность клеток в органах и тканях; 2) участвует в регуляции иммунных механизмов организма: устранение инфицированных вирусами клеток; опухолевых клеток (взаимодействие Fas-R и Fas-L); активности воспалительного процесса и иммунного ответа путем стимуляции гибели активированных Т-лимфоцитов; препятствует развитию аутоиммунного повреждения забарьерных органов (яичко, глаз), имеющих рецепторы Fas-L, взаимодействующие с Fas-R аутореактивных Т-лимфоцитов, проникая в них, погибают вследствие апоптоза из-за их взаимодействия с лимфоцитов; элиминации аутореактивных Т- и В-лимфоцитов.

Выделяют следующие стадии апоптоза: 1) стадия индукции (особенности зависят от характера действующего на клетку стимула); 2) эффекторная стадия (включаются внутриклеточные

механизмы гибели клетки); 3) стадия деградации (разрушение жизненно важных клеточных компонентов с возникновением морфологических признаков апоптоза).

Реализация апоптоза происходит при участии ферментов – каспаз. Выделяют 2 группы каспаз: 1) иницирующие каспазы (2,-8,-9,-10), которые активируются в ответ на действие стимулов, запускающих апоптоз; 2) эффекторные каспазы (3,-6,-7) активируются иницирующими каспазами. Каспазы являются цистеиновыми протеазами, расщепляющими субстраты по месту расположения в молекуле также аспарагиновых остатков [17]. Мишенями для эффекторных каспаз являются: белки, участвующие в транскрипции и репарации ДНК, такие как поли-(АДФ-рибозо) полимеразы; белки ядра (ламинин А); белки цитоскелета (фодрин и гельзолин); ингибитор ДНКазы. Функция каспаз контролируется семейством белков, получившим название «протеиновые ингибиторы апоптоза». Представители этого семейства протеинов связываются с каспазами-3, -7 и -9 и ингибируют их активацию.

Пути запуска апоптоза: через активацию «рецепторов смерти» (death receptors, DR); митохондриальный (выход цитохрома с в цитоплазму, активация АРАФ-1 (apoptotic protease activating factor) и формирование апоптосомы, опосредованное действие белка p₅₃); через клеточную мембрану: опосредованное системой «перфорин-гранзим»; путем экспрессии генов промоторов апоптоза Bad, Bax, Bcl, p₅₃ или ингибирования антиапоптозных генов – Bcl, Bcl-XL и др. Путь запуска апоптоза через активацию мембранных «рецепторов смерти». На клеточных мембранах имеются специальные «рецепторы смерти» (DR – Death Receptors). К ним относятся Fas-рецептор (Fas-R), рецептор для фактора некроза опухоли-α (TNF-R – tumor necrosis factor-receptor) и рецепторы смерти: DR₃, DR₄ и DR₅.

Взаимодействие Fas-лиганда (Fas-L) с Fas-R, TNF-α с TNF-R или TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand, лиганд, индуцирующий апоптоз, связанный с TNF-α), с DR₄ или DR₅ вызывает агрегацию этих рецепторов. Fas-L является протеином клеточной мембраны семейства TNF, представлен на цитотоксических Т-лимфоцитах и NK-клетках, а также на клетках «иммунопrivилегированных органов» и на клетках злокачественных опухолей. Он может временно появляться на других клетках под действием провоспалительных цитокинов [1, 14].

После взаимодействия рецептора смерти с соответствующим лигандом происходит агрегация рецепторов смерти, после чего к цитоплазматическим участкам (доменам) агрегированных рецепторов смерти направляются особые адаптерные протеины: FADD (Fas-associated protein with death domain), лиганды TRADD (TNF-R-adaptor-protein with death domain), которые взаимодействуют с TNF-R. Образовавшийся комплекс активирует иницирующие каспазы (прокаспаза-8 или -10), которые активируют сначала эффекторную каспазу-3, а затем каспазы-6 и 7 [1, 17].

Митохондриальный путь запуска апоптоза. Существует митохондриальный механизм усиления функции эффекторных каспаз. При этом каспаза-3 в активном состоянии расщепляет протеин цитоплазмы Bid, который затем перемещается к митохондрию и встраивается в мембрану, что приводит к освобождению цитохрома с из митохондрий. Он активирует АРАФ-1 и прокаспазу-9 с последующей прокаспазы-3, 6 и 7 [17].

Причинами, запускающими апоптоз через изменение функции митохондрии, являются: дефицит факторов роста в окружающей клетку среде; увеличение образования в клетке активных форм кислорода; деструкция ДНК; воздействие глюкокортикоидов на лимфоциты, тимоциты и др. Под влиянием этих стимулов изменяется функция протеинов, относящихся к семейству Bcl-2. Протеины этого семейства делятся на 2 класса. Протеины 1-го класса ингибируют апоптоз. Они погружены в наружную мембрану митохондрий и регулируют проницаемость мембраны, а также уменьшают образование АФК. Представителями этого класса протеинов являются Bcl-2 и Bcl-x_L. Протеины 2-го класса семейства Bcl-2 стимулируют развитие апоптоза. Эти протеины находятся в цитозоле, но затем перемещаются к мембране митохондрий, где взаимодействуют с представителями первого класса – протеинами Bcl-2 и Bcl-x_L, ингибируя их. Членами протеинов второго класса семейства Bcl-2 являются Bid, Bad, Bax и др [14].

Активация представителей второго класса Bcl-2 вызывают повышение проницаемости внутренней мембраны митохондрий, что приводит к набуханию матрикса митохондрий и разрыву наружной мембраны. При подавлении функции членов семейства Bcl-2, ингибирующих апоптоз, может образоваться «неселективный мегаканал» в мембране митохондрий, увеличивающий проницаемость мембраны, что приводит к освобождению цитохрома с и белка DIABLO из митохондрий в цитозоль.

Поступивший в цитозоль цитохром с взаимодействует с АРАФ-1, привлекая каспазу-9, что приводит к формированию комплекса протеинов – апоптосомы. АТФ активирует каспазу-9. Протеин DIABLO инактивирует протеиновые ингибиторы апоптоза, что ведет к активации

каспазы-3 [17]. Путь запуска апоптоза системой «перфорин-гранзим». Этот путь запуска апоптоза играет роль в реализации механизма гибели клеток-мишеней под влиянием цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток. После распознавания клетки-мишени цитотоксические Т-лимфоциты и НК-клетки с помощью перфорина вызывают образование поры в ее плазматической мембране, через которую поступает гранзим В, активирующий каспазу-3 [10, 15].

Путь запуска апоптоза, связанный с действием белка p_{53} и других промоторов апоптоза. Белок p_{53} , играющий важнейшую роль в цитопротекции, постоянно образуется в различных клетках. В нормальных клетках содержание белка p_{53} незначительно вследствие его быстрой деградации после образования. Повреждение ДНК вызывает стабилизацию белка p_{53} , что увеличивает его концентрацию в цитозоле.

Протеин p_{53} относится к факторам транскрипции. Он может связываться с промоторами ряда важнейших генов: с геном белка p_{21} , активируя его, что приводит к образованию его продукта, ингибирующего циклинзависимые киназы, «останавливающие» клетку в стадии клеточного цикла G_1 и G_2 . При несостоятельности репарации ДНК p_{53} через активацию соответствующего гена увеличивает образование протеина Вах, который запускает апоптоз посредством изменения функции митохондрий. Протеин p_{53} также стимулирует образование свободных радикалов, изменяющих состояние мембраны митохондрий и вызывают освобождение цитохрома с в цитозоль. Кроме того, при нарушении репарации ДНК протеин p_{53} увеличивает образование Fas-R, облегчая его транспорт из комплекса Гольджи к клеточной мембране, что активирует апоптоз под воздействием Fas-лиганда [1, 15-19].

Некроз – процесс клеточной гибели, для которого характерно набухание клетки, нарушение целостности цитолеммы, деградация органелл и ДНК. Некроз необратим и развивается после чрезмерного повреждения клетки, вызванного гипоксией и/или действием свободных радикалов, не зависит от энергоснабжения и межклеточной сигнализации. Некроз обычно устраняют по деструкции клеточных мембран с применением электронной микроскопии [1, 8, 10, 20].

Подходы к классификации повреждения и гибели нервных клеток

При развитии процесса нейродегенерации происходит гибель преимущественно нервных клеток и активация глиального компонента нервной ткани. Подавляющее большинство нейронов при развитии нейродегенеративного процесса погибает не от прямого воздействия летального фактора, хотя его действие на начальных этапах не исключено, а в результате постепенного истощения защитных механизмов и активации программы самоуничтожения [1, 8, 10]. Первые исследования необратимых деструктивных изменений, происходящих в клетках, начали проводиться вскоре после разработки клеточной теории. В 1990 г. P.G. Clarke предложил классификацию типов клеточной гибели, актуальную в настоящее время: I – апоптоз, II – аутофагия, III – нелизосомальная клеточная гибель – соответствует некрозу.

В 2005 г. Номенклатурным комитетом по клеточной гибели (Nomenclature Committee on Cell Death, NCCD) рекомендована классификация, в которой дополнительно охарактеризованы другие варианты гибели клеток. Согласно современным представлениям клетка может считаться мертвой в случае выявления одного из трех морфологических и молекулярных критериев: потеря целостности цитоплазматической мембраны, полная фрагментация клетки (в том числе ее ядра) с формированием отдельных апоптотических телец и поглощение погибшей клетки (или ее фрагментов) другой клеткой [1, 8, 10, 21-25].

В тоже время, для поврежденных нейронов головного мозга характерно сморщивание перикарионов с последующим колликационным или коагуляционным некрозом [15]. Для точного определения типа клеточной смерти необходимо использовать морфологические методы, в первую очередь электронную микроскопию. Рекомендуется сочетание не менее двух методов исследования: метода визуализации морфологических изменений и определения биохимических изменений внутри клетки [1, 8, 10, 21-25].

Заключение

Таким образом, к основным видам клеточной гибели относят апоптоз, некроз, аутофагию, сенесценцию и митотическую катастрофу. В основу этой современной классификации положены морфологические и молекулярные (биохимические) критерии гибели клетки, функциональные аспекты (регулируемая или акцидентальная гибель, физиологическая или патологическая) и иммунологическая характеристика процесса (иммуногенная и неиммуногенная клеточная смерть).

Изучение видов и механизмов реализации клеточной гибели, а также перехода нейронов из одного функционального состояния в другое (нормохромия, гиперхромия, гипохромия) является важным и актуальным при экспериментальном моделировании, проведении клинических исследований и диагностике нейродегенеративных заболеваний.

Литература (references)

1. Коржевский Д.Э., Григорьев И.П., Колос Е.А. Молекулярная нейроморфология. Нейродегенерация и оценка реакции нервных клеток на повреждение. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2015. – 110 с. [Korzhevsky D.E., Grigoriev I.P., Kolos E.A. *Molekulyarnaya neyromorfologiya. Neyrodegeneratsiya i otsenka reaktsii nervnykh kletok na povrezhdeniye*. Molecular neuromorphology. Neurodegeneration and assessment of the response of nerve cells to damage. – Saint-Petersburg: SpetsLit, 2015. – 110 p. (in Russian)]
2. Clarke P.G. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms // *Anatomy Embryology*. – 1990. – N181. – P. 195-201.
3. Dixon S., Lemberg K.M., Lamprecht M.R. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death // *Cell*. – 2012. – N149. – P. 1060-1072.
4. Doitsh G., Galloway N.L., Geng X. Cell death by pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection // *Nature*. – 2014. – N505. – P. 509-514.
5. Fletcher G.C., Xue L., Passingham S.K., Tolkovsky A.M. Death commitment point is advanced by axotomy in sympathetic neurons // *Cell Biology*. – 2000. – N50. – P. 741-754.
6. Friedmann Angeli J.R., Schneider M., Proneth B. Inactivation of tin ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice // *Nature Cell Biology*. – 2014. – N16. – P. 1180-1191.
7. Gorman A.M. Neuronal cell death in neurodegenerative diseases: recurring themes around protein handling // *Cell Molecular Medicine*. – 2008. – N12. – P. 2263-2280.
8. Hotchkiss R.S., Strasser A., McDunn J.E., Swanson P. E. Cell death // *English Medicine*. – 2009. – N361. – P. 1570-1583.
9. Martin L.J. Mitochondrial and cell death mechanisms in neurodegenerative diseases // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2010. – N3. – P. 839-915.
10. Martin L.J., Al-Abdulla N., Brambrink A.M. Neurodegeneration // *Brain Research Bulletin*. – 1998. – N46. – P. 281-309.
11. Nixon R. A., Yang D. S. Autophagy and neuronal cell death in neurological disorders // *Cold Spring Harbor Perspective Biology*. – 2012. – N4. – P. 210-219.
12. Larsen K.E., Fon E.A., Hastings T.G. Methamphetamine-induced degeneration of dopaminergic neurons involves autophagy and upregulation of dopamine synthesis // *Neuroscience*. – 2002. – N22. – P. 8951-8960.
13. Caruso R., Fedele F., Luciano R. Mitotic catastrophe in malignant tumors: the pathologist's viewpoint // *Ultrastructural Pathology*. – 2011. – N2. – P. 66-71.
14. Kerr J.F., Wyllie A., Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics // *British Journal of Cancer*. – 1972. – N26. – P. 239-257.
15. Degterev A., Huang Z., Boyce M. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury // *Natural Biology*. – 2005. – N1. – P. 112-119.
16. Boya R., Gonzalez-Polo R. A., Casares N. Inhibition of layers apoptosis // *Molecular Cell Biology*. – 2005. – N25. – P. 1025-1030.
17. Bressenot A., Marchal S., Bezdetsnaya L. Assessment of apoptosis by immunohistochemistry to active caspase-3, active caspase-7, or cleaved PARP in layer cells and spheroid and subcutaneous xenografts of human carcinoma // *Cytochemistry*. – 2009. – N57. – P. 289-300.
18. Holubec H., Payne C.M., Bernstein H. Assessment of apoptosis by immunohistochemical markers compared to cellular morphology // *Histochemistry and Cytochemistry*. – 2005. – N53. – P. 229-235.
19. Madeo F., Frohlich E., Frohlich K. U. A yeast mutant showing diagnostic markers of early and late apoptosis // *Cell Biology*. – 1997. – N139. – P. 729-734.
20. Cho Y.S., Challa S., Moquin D. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1- RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation // *Cell*. – 2009. – N137. – P. 1112-1123.
21. Clarke P.G., Clarke S. Nineteenth century research on cell death // *Oncology*. – 2012. – N34. – P. 139-145.
22. Kroemer G., El-Deiry W.S., Golstein P. Nomenclature Committee on Cell Death Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death // *Cell Death Differentiation*. – 2005. – N2. – P. 1463-1467.
23. Kroemer G., Galluzzi L., Vandenabeele P. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009 // *Cell Death Differentiation*. – 2009. – N16. – P. 3-11.
24. Galluzzi L., Bravo-San Pedro J.M., Vitale I. Essential versus aspects of cell death: recommendations of the NCCD //

Cell Death Differ. – 2015. – N22. – P. 58-73.

25. Galluzzi Vitale I., Abrams J.M. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death // Cell Death Differentiation. – 2012. – N19. – P. 107-120.

Информация об авторах

Бонь Елизавета Игоревна – кандидат биологических наук, доцент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет», Респ. Беларусь. E-mail: asphodela@list.ru

Максимович Наталья Евгеньевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный университет», Респ. Беларусь. E-mail: mne@grsmu.by

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.