

GENETICALLY PROGRAMMED CELL DEATH

V. I. AGOL

Cells are encoded with a program which is able to trigger cell death. Normally, this program aims at eliminating useless and diseased cells. The programmed cell death is a major factor of immunity, since the death of infected cells prevents the spread of infection. Deregulation of this program results in diverse pathologies, but on the other hand, the program may serve as a target for therapeutic drugs.

В клетках есть программа собственной гибели. В норме она направлена на удаление ненужных и больных клеток. Программируемая смерть – важный фактор иммунитета, поскольку гибель зараженной клетки предотвращает распространение инфекции. Нарушение программы клеточной гибели ведет к патологии, а воздействие на эту систему – перспективное направление терапии.

ГЕНЕТИЧЕСКИ ЗАПРОГРАММИРОВАННАЯ СМЕРТЬ КЛЕТКИ

В. И. АГОЛ

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

Организмы разных людей имеют более или менее одинаковое число клеток. Колебания есть, но они относительно невелики. Если сравним число клеток в каком-нибудь органе у здоровых взрослых людей, то также получим схожие числа. Когда же, например, анализ крови показывает изменение числа клеток, врач начинает беспокоиться. Есть животные, у которых число клеток вообще не колеблется, даже в узких пределах. У очень мелкого, длиной около миллиметра, червячка *Caenorhabditis elegans* ровно 945 клеток; из них нервных 302, ни больше, ни меньше.

Как поддерживается такое постоянство? Одна группа механизмов достаточно очевидна. Клетка может разделиться на две дочерние, а может и не делиться. Какая из этих возможностей реализуется, зависит как от генетической программы, так и от внешних сигналов, которые клетка получает от своих соседей или из окружающей среды. Но существует и другой механизм, привлечший внимание ученых лишь в последние годы. Оказывается, наряду с программой, регулирующей клеточное деление, есть особая генетическая программа, реализация которой при определенных условиях приводит клетку к гибели. Гибнет клетка не от руки какого-нибудь постороннего убийцы (хотя бывает и так), она сама приносит себя в жертву во имя блага организма. Вот об этом самопожертвовании клеток и пойдет речь.

Прежде всего о самом биологическом явлении – программируемой клеточной смерти. У червяка, о котором я упоминал, в результате клеточных делений на самом деле образуется не 945, а 1076 клеток, но 131 из них обязательно гибнет. При формировании некоторых органов человека и животных также первоначально возникает намного больше клеток, чем потом потребуется. Например, так бывает при развитии нервной системы. Лишние клетки в свое время мирно погибают. Мирно – значит, без воспаления. Клетка сморщивается и постепенно распадается на обломки, которые обычно поедаются макрофагами – специальными клетками, у которых хороший аппетит. Но как узнать, какая клетка лишняя, а какая нет? Какая из двух клеток, рожденных действительно равными (а генетически две сестринские клетки

идентичны), должна умереть, обеспечив тем самым продолжение жизни своей сестры?

Ситуации бывают разные. У *Caenorhabditis elegans* судьба клетки определена абсолютно жестко, и поменять эту судьбу у здоровой особи практически невозможно; есть клетки (те самые 131), у которых, можно сказать, “на роду написано” покончить жизнь самоубийством. В других случаях задача решается не столь однозначно. Например, при развитии организма млекопитающих те нервные клетки, которые не успевают установить контакты — синапсы — между собой или с иннервируемыми органами, и есть лишние. Их существование не имеет смысла. Для клеток других тканей сигнал к включению программы смерти может быть иным, но биологический смысл самопожертвования можно найти всегда.

Самопожертвование осуществляется по определенному ритуалу при участии ряда факторов, многие из которых еще не известны науке. Схематически смертоносный сценарий можно разбить на несколько основных этапов. На первом этапе клетка получает “послание” о том, что она должна пожертвовать своей жизнью для благополучия организма. Это известие приходит из окружающей среды — либо от соседних клеток, либо от межклеточных веществ, твердых или жидких. Чтобы воспринять такое “послание”, клетки имеют специальные органы чувств, которые называют рецепторами (от латинского *resipere* — получать). Рецепторы представляют собой белковую молекулу, обычно состоящую из трех частей: внеклеточной, внутриклеточной и промежуточной, пронизывающей клеточную мембрану. Наружная часть рецептора способна узнавать молекулы строго определенного строения, которые могут либо свободно плавать во внеклеточной жидкости, либо быть фиксированными на поверхности других клеток или межклеточных волокон. Сигнальные молекулы и рецепторы подходят друг к другу, как ключ к замку. Информация передается через различные рецепторы или сочетание рецепторов. Информацией может являться и отсутствие специфического вещества в окружающей клетку среде. Хорошо известно, что в некоторых случаях молчащий телефон говорит очень о многом.

В результате контакта сигнальных молекул с наружной частью белка-рецептора этот рецептор претерпевает структурные изменения: некоторые атомы меняют положение относительно других атомов. Структурная перестройка захватывает и внутриклеточную часть молекулы рецептора. Она может либо обладать определенной ферментативной активностью сама, либо быть тесно связана с некоторыми клеточными ферментами. Изменение структуры рецептора сказывается на работе этих ферментов, поэтому в результате контакта рецептора с внеклеточным веществом внутри клетки про-

исходят разные биохимические изменения. Часто речь идет об изменении концентрации ионов кальция, а также некоторых относительно мелких фосфорсодержащих органических соединений, относящихся к классу нуклеотидов. Активные соединения появляются и в результате гидролиза определенных липидов клеточной мембраны. В свою очередь, все это ведет к присоединению или отсоединению остатков фосфата от молекул белковых регуляторов, способных влиять на генетический аппарат клетки. Фосфорилирование и дефосфорилирование, а также некоторые другие биохимические модификации меняют активность этих регуляторов.

Во втором действии драмы внутриклеточные регуляторы-посланники, получив важные инструкции, вносят поправки в работу отдельных генов. Работа эта, как известно, заключается в образовании РНК, а затем и белков. Таким образом, в результате срабатывания генетической программы, первоначально запущенной сигналом с рецептора, происходит изменение набора внутриклеточных РНК и белков. В конечном счете появляются или активируются ферменты, способные разрушать клеточные белки и нуклеиновые кислоты, их называют протеазами (протеин — белок) и нуклеазами. В заключительном акте клетка теряет свою целостность и становится пищей для макрофагов. Морфологические и биохимические изменения в клетках-самоубийцах весьма схожи, даже если это клетки разных органов и разных организмов. Хроматин, главный внутриядерный компонент, содержащий ДНК и белки, уплотняется, а само ядро в конечном счете распадается на мелкие фрагменты (рис. 1). Вся клетка также дробится на отдельные кусочки (рис. 2). Этот комплекс изменений, характерный для программируемой гибели клеток, часто обозначают термином апоптоз, что в переводе с греческого означает “опадание листьев”.

Программа, принимающая крайне ответственное и иногда непоправимое решение — жить или не жить, — должна быть предельно осмотрительной, поэтому клетка старается сделать все, чтобы не ошибиться. Перед вынесением окончательного приговора (активирование разрушающих клетку ферментов) сигналы, получаемые извне, подвергаются всестороннему анализу. Этот анализ начинается уже на уровне первичных сигналов, получаемых клеткой. Так, в ткани, в которой идет интенсивное клеточное деление, обычно находятся разнообразные белковые вещества, называемые факторами роста. Эти факторы стимулируют деление. Их отсутствие является либо указанием на то, что потребность в “молодых” клетках уже удовлетворена, либо серьезным сигналом неблагополучия. Разные факторы роста взаимодействуют с разными рецепторами, и клетка часто ориентируется на информацию, получаемую одновременно с нескольких рецепторов.

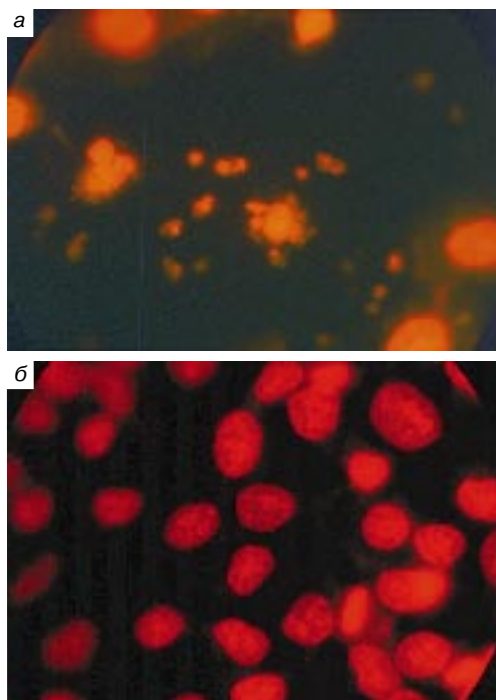


Рис. 1. Клетки, в которых ядерный хроматин окрашен красителем, флуоресцирующим при освещении ультрафиолетом. а – Клетки в состоянии апоптоза, б – контрольные клетки. В апоптозных клетках хроматин уплотнен и фрагментирован.

Анализ этой информации внутри клетки происходит при участии многих белков. В последнее время открыты белки как способствующие, так и препятствующие развитию апоптоза. Эти белки как бы напоминают штат нескольких инстанций судебных коллегий, которые могут либо одобрить смертный приговор, либо его отменить или приостановить исполнение. Хотя мы не знаем, в чем конкретно заключается процесс принятия решения, известно, что характер этого решения часто зависит от относительной концентрации определенных белков-регуляторов. Некоторые из этих белков – “ястребы” – обычно “голосуют” за смертный приговор, другие – “голуби” – за помилование. В ряде случаев решение принимается простым большинством голосов. Например, это может происходить следующим образом (рис 3). Есть такой белок Вах, молекулы которого имеют сродство друг к другу и образуют димеры. Повышенное содержание белка Вах способствует развитию апоптоза. Другой белок – Bcl-2 также умеет формировать димеры, но он может также присоединиться и к белку Вах, образуя при этом Вах/Bcl-2 гетеродимеры. В результате происходит нейтрализация апоптозной активности белка Вах. Таким образом, при прочих равных условиях преобладание белка Вах будет способствовать гибели клетки (при наличии соответствующего сигнала), а

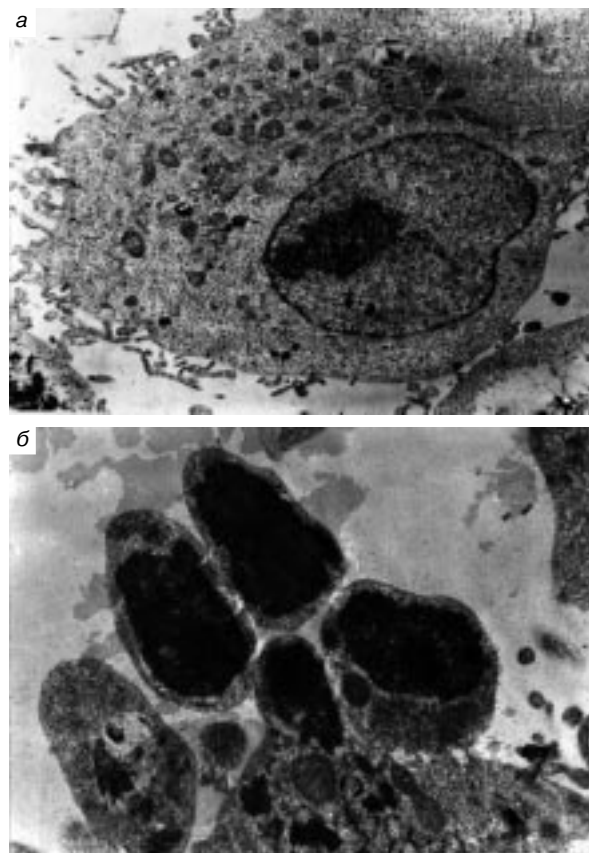


Рис. 2. Электронные микрофотографии контрольной клетки (а) и клетки в состоянии апоптоза (б). Апоптозная клетка раздроблена на отдельные кусочки, многие из которых содержат фрагменты уплотненного хроматина (на фото – темноокрашенное вещество).

при преобладании белка Bcl-2, наоборот, клетка с большей вероятностью будет защищена от гибели.

Интересно, что некоторые из генов, контролирующих апоптозную реакцию у людей, являются очень древними. Например, ген человека, направляющий синтез белка Bcl-2, имеет структурное сходство с геном *Caenorhabditis elegans*, в котором закодирован антиапоптозный белок Ced-9. При нарушении функции белка Ced-9 гибнет не 131 клетка, как в норме, а большее их число. В специальных опытах было показано, что в определенных пределах белки Bcl-2 и Ced-9 взаимозаменяемы. Есть и другие примеры родственных связей между участками систем, контролирующими апоптоз у людей и червей. Так, некоторые из протеаз человека, принимающих участие в финале апоптозной драмы, – родственники другого белка (Ced-3) *Caenorhabditis elegans*.

Но в общем эта система у млекопитающих все же значительно сложнее и включает большее число

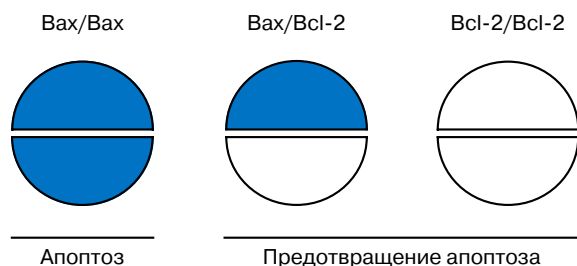


Рис. 3. Схема регуляции апоптоза при помощи взаимодействующих между собой белков с разнонаправленными активностями. Комплексы, состоящие из двух молекул белка Bax (гомодимеры), способствуют развитию апоптоза. Однако при наличии достаточного количества молекул белка Bcl-2 происходит образование Bax/Bcl-2 гетеродимеров, которые лишены способности вызывать апоптоз.

компонентов. Вообще “бюрократический” аппарат наших клеток, несмотря на их микроскопические размеры, огромен; в том числе “раздут” штат и в “департаменте”, который занимается апоптозом. Но это излишество только кажущееся. Ведь тот же департамент отвечает и за контроль над клеточным делением. Некоторые белки одновременно “присматривают” и за апоптозом, и за делением клетки. Таким образом, системы регуляции клеточного деления и клеточной смерти оказываются тесно переплетенными между собой. Это обстоятельство имеет очень важные биологические последствия. Одно из них заключается в том, что апоптоз — мощное и важнейшее средство естественной профилактики раковых и других злокачественных новообразований. Есть специальные гены, которые так и называются — анти-онкогены. Среди них важное место занимает ген, кодирующий белок с маловыразительным названием p53 (название характеризует массу этого белка в килодальтонах). Белок p53 внимательно “следит” за работой генов, способных вызывать несвоевременное деление клетки, и вообще за неполадками в ДНК — генетическом материале клетки. В случае необходимости p53 сдвигает равновесие в пользу апоптоза и потенциально опасная клетка гибнет. Если же “заболевает” (мутирует) сам p53, то система регуляции клеточного деления остается без должного присмотра.

Все это не просто абстрактные рассуждения: в клетках злокачественных новообразований человека нередко обнаруживают мутации в белке p53, нарушающие его работоспособность. Без присмотра нарушается дисциплина, и вместо того, чтобы погибнуть, клетка начинает бесконтрольно делиться. Возникает опухоль. Если же p53 нормален, система программируемой клеточной смерти резко снижает частоту раковых заболеваний. Сходным образом эта система следит и за некоторыми другими неполадками в работе генетического аппарата. Значительно

легче своевременно устранить потенциально опасную клетку, чем потом бороться с ее многочисленным непослушным потомством.

С другой стороны, многие противораковые лекарства обладают лечебным действием именно потому, что способны вызывать апоптоз в раковых клетках. Эти лекарства часто воздействуют на генетический аппарат делящихся клеток, вызывая нарушения в его работе. А как мы уже знаем, клеточные белки, в частности p53, реагируют на такие нарушения включением апоптозной системы. В то же время, при лечении противораковыми препаратами нередко возникает устойчивость к этим препаратам — одна из главных причин недостаточной эффективности химиотерапии злокачественных опухолей. Эта устойчивость имеет в разных случаях разную природу, но одна из причин — нарушение работы апоптозной системы. Клетка как бы отказывается жертвовать собой во имя общего блага несмотря на полученные инструкции. Кончается такой “эгоизм” скверно. Лучевая терапия раковых заболеваний также основана на способности облучения вызывать апоптоз (при участии p53) прежде всего в активно делящихся клетках.

Нарушение физиологического равновесия между делением и гибелью клеток лежит в основе и некоторых других — неопухолевых — заболеваний. В частности, есть основания считать, что при СПИДе (синдроме приобретенного иммунодефицита) уменьшение содержания в крови определенного класса лейкоцитов, играющих важную роль в иммунитете, обусловлено их апоптозной гибелью. В основе некоторых других дегенеративных заболеваний также, возможно, лежит нарушение функции апоптозной системы.

Большую роль играет апоптоз и в защите организма от возбудителей инфекционных заболеваний, в частности, от вирусов. Многие вирусы вызывают такие глубокие нарушения в обмене веществ зараженной клетки, что она воспринимает эти нарушения как сигнал к экстренному включению программы гибели. Биологический смысл такой реакции вполне понятен. Смерть зараженной клетки еще до того, как в ней образуется новое поколение вирусных частиц, предотвратит распространение инфекции по организму. Однако у некоторых вирусов выработались специальные приспособления, направленные на подавление апоптоза в заражаемых клетках. Тут могут использоваться разные средства. В одних случаях в вирусном генетическом материале закодированы вещества, которые и по строению, и по функции очень похожи на клеточные антиапоптозные белки-регуляторы (такие как, например, уже упоминавшийся Bcl-2 или белки, подавляющие активность протеаз). В других — вирус на правах оккупанта насильственно стимулирует синтез клеткой ее собственных анти-апоптозных

белков. Так или иначе, создаются предпосылки для беспрепятственного размножения вируса.

Подведем некоторые итоги. В генетическом аппарате каждой клетки многоклеточного организма имеется специальная программа, которая при определенных обстоятельствах может привести клетку к гибели. При нормальном развитии эта программа направлена на удаление избыточно образовавшихся клеток-“безработных”, а также клеток-“пенсione-ров”, переставших заниматься общественно полезным трудом. Другая важная функция клеточной гибели — удаление клеток-“инвалидов” и клеток-“диссидентов” с серьезными нарушениями структуры или функции генетического аппарата. В частности, апоптоз — один из основных механизмов самопрофилактики онкологических заболеваний.

Система программируемой клеточной смерти — существенный фактор иммунитета, поскольку гибель зараженной клетки может предотвратить распространение инфекции по организму. Другое дело, что некоторые инфекционные агенты выработали специальные меры для предотвращения преждевременной гибели зараженных клеток. Нарушения системы программируемой гибели клетки — причина серьезной патологии. Ослабление способности к апоптозу может вести к развитию злокачественных опухолей. Некоторые заболевания, в частности дегенеративные повреждения нервной системы, — результат избыточного апоптоза.

Воздействие на программу клеточной гибели — перспективное направление лекарственного лечения. Так, одна из важных задач противораковой терапии — стимуляция апоптозной системы. В других случаях задача врача, наоборот, предотвратить вредное для организма клеточное самоубийство.

Таким образом, какие-то компоненты каждой клетки по праву могли бы нести микроскопическое изображение черепа со скрещенными костями. Однако следует признать, что наличие такого смертельного механизма — обстоятельство не только необходимое, но в конечном итоге крайне благоприятное. Без системы программируемой клеточной гибели мы с вами не могли бы появиться на свет такими, какими мы рождаемся. И поддержание порядка в наших организмах в течение дальнейшей жизни в значительной степени обеспечивается именно способностью наших клеток к программируемой смерти.

* * *

Вадим Израилевич Агол, доктор биологических наук, профессор кафедры вирусологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, член-корреспондент Российской Академии медицинских наук, зав. лабораторией биохимии Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова. Автор более 200 научных работ и 3 монографий.