

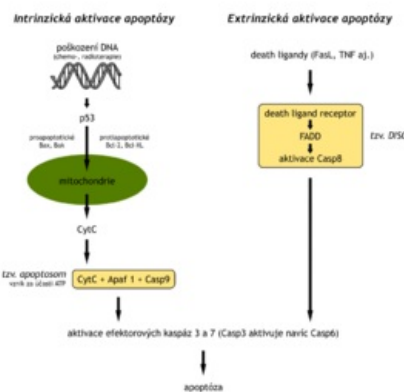
Poruchy signalizace apoptózy v nádorových buňkách

Jednou ze základních funkcí apoptózy je zabránění zhoubnému bujení tkání. Apoptóza je součástí tkáňové homeostázy – vyvážený vznik i zánik buněk. Nadměrná apoptóza vede k hypotrofii tkáně (např. u ischemie). Snížený zánik (stejně jako zvýšená replikace buněk) vede k nádorové transformaci. Všechny transformované buňky musely během své transformace potlačit apoptózu.

Apoptóza je spouštěna dvěma způsoby – vnitřní a vnější dráhou. V některých buňkách musí být aktivovány obě (zejména zevní, která aktivuje následně tu vnitřní), v jiných stačí pouze vnitřní. Obě dráhy se sejdou aktivováním exekutivních kaspas 3, 7 a 6 a pak proběhne apoptóza.

Vnější dráha

Začíná navázáním **DR L** (Death Receptor ligand) na Death Receptor, potažmo **Fas L** na **Fas** receptor a následnou trimerizací těchto receptorů (ligand se tam vezme buď díky apoptózu spouštějící buňce anebo apokriní sekreci, mezi apoptózu spouštějící faktory dále patří cytokiny, růstové faktory, hormony, toxiny). Přes protein **FADD** se k těmto receptorům váže homodimer iniciátorové prokaspasy 8 nebo 10, který se po aktivaci **DR** proteolyticky aktivuje na aktivní homodimer kaspas. Celý tento komplex se nazývá DISC (Death inducing signaling complex). Homodimer kaspas má 2 úlohy: aktivovat exekutivní prokaspasy 3, 7 a štěpit **Bid** protein na **t-Bid** protein. Kaspasa 3 pak ještě štěpí prokaspasu 6. Kaspasy 3, 6, 7 jsou exekutorové proteasy vlastní apoptózy.



Cesty aktivace apoptózy

Vnitřní dráha

Neboli mitochondriální. Díky změně propustnosti vnitřní mitochondriální membrány se uvolňuje **cytochrom c** do cytosolu, kde se navazuje na inaktivní **Apaf-1** protein a mění tak jeho konformaci. Po navázání **ATP** se komplex **Apaf-1*cyt c*ATP** sdružuje do pentameru, který je schopen navázat prokaspasu 9, která se po navázání mění na aktivní kaspasu 9. Celý složitý komplex se nazývá apoptosom. Tento apoptosom je schopen přeměnit prokaspasy 3, 7 na kaspasy 3, 7.

Změna propustnosti mitochondriální membrány je regulována **rodinou Bcl proteinů**. Proapoptotické **Bax**, **Bak** tvoří homodimery nebo heterodimery, které znamenají propustnost vnitřní mitochondriální membrány. Ta by však měla ve zdravé buňce být nepropustná, a proto existují anti-apoptotické proteiny **Bcl-2**, **Bcl-xl**, které s **Bak**, **Bax** tvoří heterodimery **Bax/Bcl-2** a tyto jsou nepropustné. Zvýšené hladiny **Bcl-2** byly nalezeny prvně u B lymfomu (B-Cell Lymphoma). Vnitřní dráha je indukována nedostatkem O_2 a živin, virovou infekcí, glukokortikoidy, teplem, radiací (poškození DNA či mitochondrií).

Schéma apoptosomu

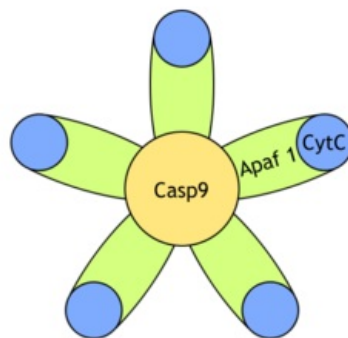


Schéma apoptosomu

Poruchy signalizace

Ztráta aktivačního signálu

Může docházet buď ke snížení exprese **DR**, anebo jsou syntetizovány nefunkční, jako tzv. decoy receptory. Těmto chybí cytosolová doména **DD**, takže se nemůže navázat ani **FADD** a aktivace **DISCu** je tak znemožněna.

Signální přesmyk

TRADD (Tumor necrosis factor Receptor Associated Death Domain) nenaváže požadovaný **FADD** (Fas Associated Death Domain), který je schopen vázat prokaspasu 8. Namísto toho se **TRADD** naváže na **TRAF** (TNF Receptor Associated Factor), který přes kaskádu několika kináz exprimuje transkripční faktor **NFkB**. Účinek **NFkB** spočívá v aktivaci antiapoptotických faktorů **XIAP**, **FLIP** i **Bcl-2**. Existují domněnky, že negativně ovlivňuje vlastní průběh apoptózy.

Inaktivace DISCu proteiny FLIP

Protein **FLIP** má velmi podobnou strukturu prokaspase 8, obsahuje doménu **DED**, kterou se naváže na **FADD** protein a zabere místo jedné nebo dvěma prokaspasám 8 v **DISCu**. Homodimery se tedy nemohou tvořit ani se proteolyticky aktivovat. Tato inhibice je přímo úměrná koncentraci proteinu **FLIP**. Není na místě hned propadat zoufalství, i při nedostatečné aktivaci kaspasy 8 tato dokáže alespoň štěpit proteiny v okolí **DISCu**, např. protein **Bid**. Tento pak jako **tBID** eliminuje protein **Bcl-2** a tím způsobí únik cytochromu c z mitochondrií.

Inhibitory Kaspas

IAP (Inhibitors of Apoptosis Proteins) přímou vazbou na aktivní místa prokaspas zabraňují jejich aktivaci na kaspasy. Jsou to například **HIAP**, **XIAP**, **SURVIVIN**, **LIVIN**. Zvýšená exprese SURVIVINU byla prokázána u mnoha typů nádorů.

Poruchy mitochondriální signalizace spojené s tumor supresorovým p53

Při poškození DNA dochází k transkripci genu **TP53**, jehož produkt je transkripční faktor **p53**. Protein **p53** má klíčovou roli v potlačení nádorových procesů. Za prvé expresí **p21**, **GADD45** staví buněčný cyklus, za druhé zvýšením exprese **Bax**, **PUMA** a potlačením **Bcl-2** výrazně napomáhá k uvolnění cytochromu c a dalších proapoptotických faktorů z mitochondrií. (Pozměnění poměru Bax/Bcl-2.) Dalším proapoptotickým účinkem je upregulace **FAS**, **DR5** nebo **Apaf 1**.

Funkce proapoptotických faktorů uvolněných z mitochondrií	
faktor	funkce
Cytochrom c	aktivace apoptosomu (viz výše)
SMAC/DIABLO	Představuje další propojení vnější a vnitřní dráhy tím, že inaktivuje XIAP, který by rád inhiboval kaspasu 3. Tato interakce má velký význam, neboť kaspasa 3 pozitivní zpětnou vazbou dále štěpí XIAP.
Endonukleasa G	štěpí DNA při na kaspasách nezávislé apoptóze
HtrA2	je hlavním IAP antagonistou, brání tak inaktivaci kaspas
AIF	Apoptosis Inducing Factor působí při na kaspasách nezávislé apoptóze, po uvolnění z mitochondrií indukuje kondensaci chromatinu a fragmentaci DNA.

Další možnosti ovlivnění apoptózy

Bodovou mutací **Ras** genu může dojít (přes MAP kinasy) k nadměrné aktivaci **Akt** kinasy. Tato je všeobecně spojována s přežitím buňky. Zeslabuje vnitřní aktivaci apoptózy fosforylací kaspasy 9, fosforylací **Bad** (fosforylace u těchto proteinů znamená inaktivaci). Také inaktivuje **Fas L**. Také přes **IKK** kinasu pozitivně ovlivňuje **NFkB**.

Signalizace apoptózy je velmi komplikovaný proces regulovaný mnoha proteiny. Naštěstí existuje spousta "sichrů", které v případě selhání prvního mohou zaskočit, ať už se jedná o vnitřní a vnější aktivaci a jejich vzájemné propojení nebo o caspase independent (na kaspasách nezávislou) apoptózu. Nádorový proces je mnohonásobný a **jediná mutace dozajista nestačí k potlačení apoptózy**. Přesto je třeba mít na paměti p53 a Bcl rodinu proteinů, jejichž defekty mohou být z hlediska onkogeneze fatální.