

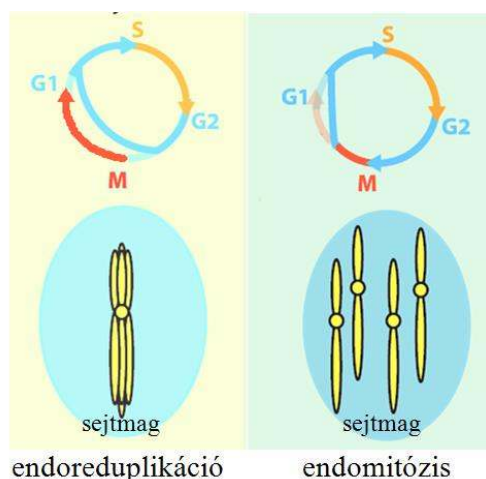
23. SPECIÁLIS SEJTSORSOK; ÖSSEJTEK, SEJTPUSZTULÁS

A fejezetet Lippai Mónika állította össze.

Szabálytalan sejtciklusok

Bár a 4 fázisos ciklus a sejtciklus tipikus formája, a szervezetben ennek számos változata is létezik. Kétféle módosulás fordul elő: kimarad a ciklus valamelyik fázisa, vagy a sejt hosszabb-rövidebb ideig, gyakran véglegesen megreked, megáll a ciklus egyik fázisában. Az előbbire példa az *embrionális sejtciklus*, mely az M és S fázisok gyors váltakozásából áll, a G_1 és G_2 fázisok kimaradnak vagy nagyon rövidek. Ilyen körülmények között a sejtszám minden ciklusban duplázódik, míg a sejtek tömege feleződik. Ez azért lehetséges, mert a petesejt általában igen nagy, tömege az átlagértéket sokszorosan meghaladja a felhalmozott tartalék anyagok miatt. A gyors, rövid ciklusok addig tartanak, amíg a sejtek mérete az átlagos szintre nem csökken, ezután beiktatódnak a mérettartást biztosító G_1 és G_2 fázisok.

Az *endoreplikáció* során nem, vagy csak részben zajlik le a mitózis. A rovarlárvák egyes sejtjeiben kialakuló óriás- (politén) kromoszómák úgy jönnek létre, hogy a sejtek ismételt S fázisokon mennek keresztül, melyeket egyáltalán nem követ mitózis, és a replikálódott DNS-szálok együtt maradnak (lásd 22.9. ábra). Ha az M fázis részben lezajlik, de a végén elmarad az anafázis második fele, többszörös kromoszómaszámú, például tetraploid sejtek jönnek létre (23.1. ábra). Ha csak a citokinézis marad el, többmagvú sejtek alakulhatnak ki – a májban gyakoriak az ilyenek. A meiózisa jellemző, hogy az első osztódást követően kimarad az S fázis, ezért a második meiotikus osztódás fele annyi DNS-tartalmú sejteket eredményez.



23.1. ábra Az endoreplikáció típusai: az endoreduplikáció során a mitózis teljesen elmarad, politén kromoszómák jönnek létre. Az endomitózis esetében a kromoszómák kettéválnak, de nem lesz két új sejtmag (nincs telofázis és citokinézis).

A szervezetben gyakran előfordul, hogy egyes sejtek tartósan megállnak a ciklus valamelyik fázisában. Az érő petesejtekre például általában jellemző, hogy az első meiotikus osztódás profázisa (alacsonyabbrendű gerincesekben a G_2 fázis) igen hosszú, akár évekig is eltarthat. A növekedés azonban ilyenkor sem szünetel, a sejtekben sok szikanyag halmozódik fel, majd hormonális (gerincesekben progeszteron-) hatásra befejezik az osztódást, de a meiózis II. metafázisában általában újra megállnak és a ciklus csak a megtermékenyítés után folytatódik (lásd 22.7. ábra).

A differenciálódás

A felnőtt szervezet fő tömegét valamilyen funkcióra specializálódott, *differenciált sejtek* alkotják. Ezek már az egyedfejlődés korai szakaszaiban megjelennek, és jellemző rájuk, hogy a differenciálódást megelőző utolsó ciklus G_1 fázisából nem S fázisba, hanem egy sajátos állapotba, a G_0 fázisba kerülnek. Míg az osztódó sejtek termelési kapacitását teljes egészében saját anyagaik folyamatos megkettőzése köti le, a G_0 állapotú differenciált sejtek elsősorban a funkcióik ellátásához szükséges, a szervezet működése szempontjából fontos anyagokat állítják elő (például az izomsejtek nagy mennyiségű aktint, a kötőszöveti sejtek kollagént, a mirigysejtek váladékot stb.).

A sejtciklusból való kilépés lehet ideiglenes vagy végleges. Ez utóbbi az osztódó-képesség teljes elvesztését jelenti, mivel az ilyen sejt nem készíthető újabb DNS-szintézisre, ezek *terminálisan differenciálódott sejtek*. A sejtciklusból véglegesen kilépő sejtek tipikus példái a neuronok és a szívizomsejtek. Osztódó-képesség hiányában populációik – ritka kivételektől eltekintve – regenerációra nem képesek, ezért számuk az utolsó sejtciklus végrehajtása után stabilizálódik, illetve az életkor előrehaladtával a sejtpusztulás miatt fokozatosan csökken.

A differenciált sejtek más csoportjai a ciklusból csak ideiglenesen lépnek ki. Megfelelő inger hatására a G_0 állapotból újra visszatérnek a G_1 fázisba, majd szabályosan áthaladva az S és G_2 fázisokon, osztódnak. Az ilyen típusú sejtpopulációk ezért regenerációra, az elvesztett sejtek pótlására képesek. Tipikus példaként a májsejteket lehet megemlíteni.

AZ ÖSSEJTEK

A szöveti összejtek

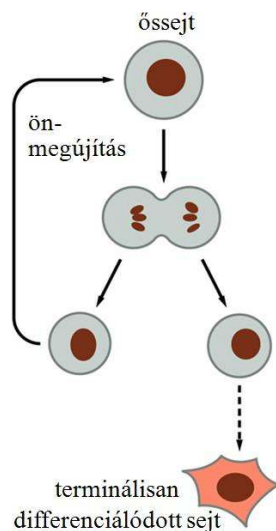
A gyorsan kicserélődő, megújuló szövetekben folyamatosan pusztulnak a differenciált sejtek. Ilyen például a bőr, melynek felső rétege lekopik, a bélhám, melynek sejtjei a bolyhok csúcsairól folyamatosan leöklődnek, vagy a vérképző rendszer, ahol szintén jellemzőek a rövid életű sejtek. Más esetekben (mint a fentebb említett, regenerációra képes máj szövetnél is) a váratlan, nagyobb tömegű sejtvesztést kell helyreállítani. Ezekben a szövetekben a differenciált sejtek utánpótlását tartósan osztódásra képes, differenciálatlan, úgynevezett *törzssejtek* vagy *szöveti összejtek* biztosítják.

Valamennyi őssejtje jellemző, hogy:

- Az őssejt maga *differentiálatlan*, tehát sokféle fejlődési potenciállal rendelkezik. Aszerint, hogy sok, kevés vagy csak egyféle különböző utódsejt alakulhat ki belőlük, megkülönböztetnek *multi-*, *oligo-* vagy *unipotens* szöveti őssejteket. A felnőtt szervezet valamennyi sejttypusát csak a *pluripotens* embrionális sejtek képesek létrehozni (lásd később).

- *Korlátlan ideig képes osztódni* (vagy legalábbis az élőlény élete végéig) – azaz halhatatlan. A korlátlan osztódó-képesség azonban nem jelenti azt, hogy a sejt mindig folyamatosan, gyorsan kettőződik; az őssejtek általában kifejezetten ritkán osztódnak a többi, differentiáltabb társukhoz képest.

- Az őssejt *aszimmetrikusan képes osztódni*: a két utódsejt közül az egyik megőrzi őssejt-tulajdonságait, képességét a sejtciklus folytatására, míg a másik differentiálódik, osztódó-képességét előbb-utóbb elveszti, átmegy G_0 fázisba, majd elpusztul (23.2., 23.3. és 23.8. ábra)

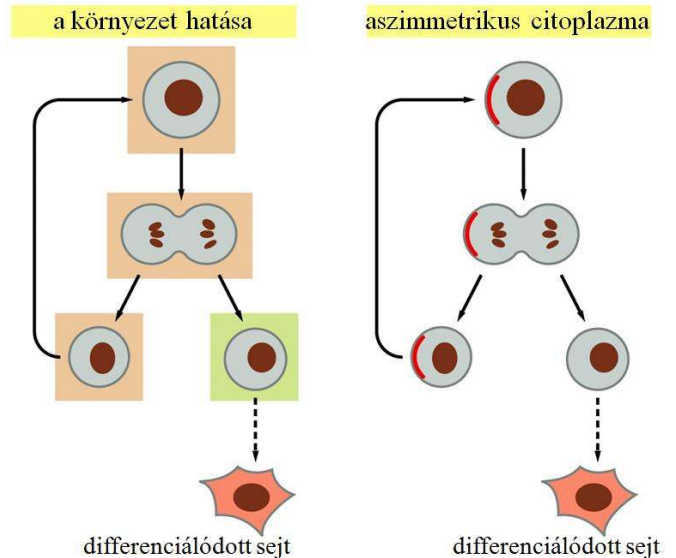


23.2. ábra Az őssejtek képesek saját magukat reprodukálni, azaz önmagukkal teljesen azonos tulajdonságokkal rendelkező utódsejtet létrehozni. Ugyanakkor kialakulhat belőlük terminálisan differentiálódott, tovább már nem osztódó sejttypus is.

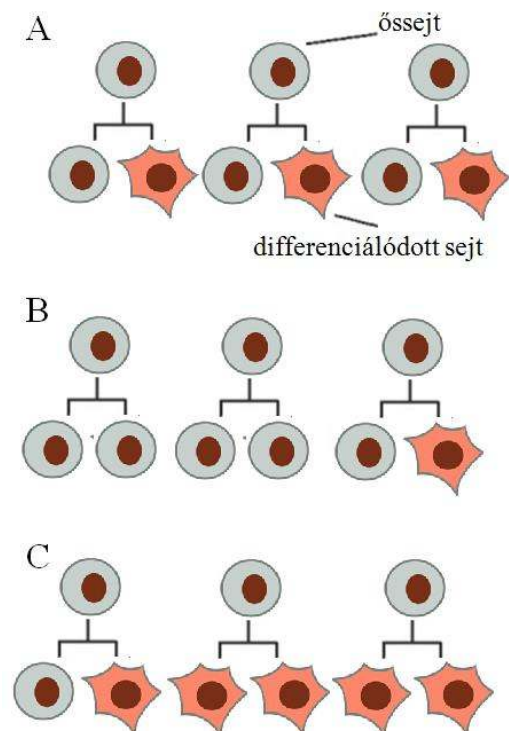
Az aszimmetrikus osztódás oka lehet valamilyen, a környezetből származó jel, vagy az, hogy az őssejt citoplazmája nem egyenletesen oszlik meg az utódsejtek között (23.3. ábra). A környezet hatására kialakuló aszimmetrikus sejtorsó rugalmasabb alkalmazkodást tesz lehetővé. Adott esetben szimmetrikus osztódások révén növelhető az őssejtek száma, ami annak köszönhető, hogy mindkét utódsejt megőrzi az őssejt-karaktert - a bőr sérülése során, a nagyobb folytonossági hiány hatására is ez történik. Hasonló módon igény szerint a differentiálódott sejtek száma is megemelhető (23.4. ábra).

Sok olyan szövettípus van, amelyekben a ritkán osztódó őssejtek nem tudnak elég gyorsan pótolni az elvesző/pusztuló differentiált sejteket. A legtöbb

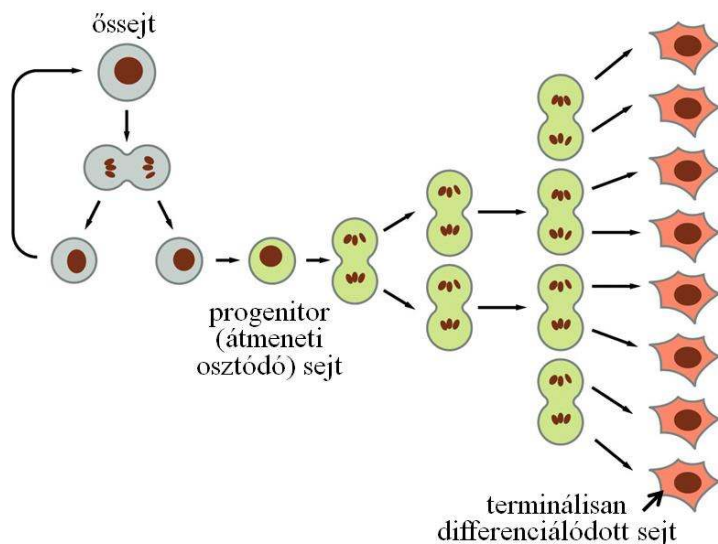
őssejten alapuló szövetben az őssejtek úgynevezett *progenitor* (transit amplifying, „átmeneti osztódó” vagy „elkötelezett elődsejt”) sejteket hoznak létre, amelyek néhány, általában gyors sejtcikluson még keresztülmennek, de már nem halhatatlanok, és végül csak egy (legfeljebb néhány) sejtfeleséggé differentiálódnak (23.5. ábra).



23.3. ábra Az őssejtek aszimmetrikus osztódását okozhatja az utódsejtek eltérő környezete, vagy a környezettől függetlenül az őssejt citoplazmájának belső polarizáltsága.

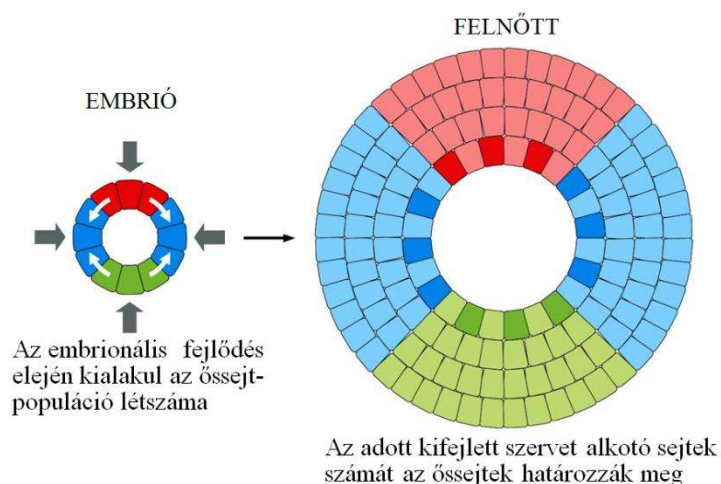


23.4. ábra A környezeti jelek hatására a szervezet aktuális igényei szerint megváltozhat az őssejtek osztódása révén keletkező utódsejtek aránya. **A:** Az őssejtek száma állandó marad. **B:** Több őssejt keletkezik. **C:** Több differentiálódott sejttypus keletkezik.



23.5. ábra A progenitor sejtek lehetővé teszik, hogy az őssejteknel jóval nagyobb számú differenciálódott utódsejt alkossa az adott szövetet.

A progenitor sejtek hozzájárulhatnak egyes szervek méretének szabályozásához is. A fejlődés kezdetén kialakul egy kevés számú tagból álló, őssejtként viselkedő csoport. Aszimmetrikus osztódás révén egyik utódsejtjük alkalmas lesz arra, hogy gyorsan véges számú, a szövetféleségnek megfelelő funkciójú sejtpopulációt hozzon létre. Miután azonban az utód progenitor sejtek osztódásainak száma korlátozva van, egy adott méret fölé nem mehet a differenciálódott sejtek együttese (23.6. ábra).



23.6. ábra Az őssejtek az embrióban működő, kis hatótávolságú fejlődési jelek alapján (szürke nyilak) korlátozott számban alakulnak ki. Egyes szervek méretét a kisszámú szöveti őssejtből keletkező, korlátozott számú osztódást végrehajtó (világosabb árnyalattal jelölt) progenitor sejtek határozzák meg.

A progenitor sejtek létének ezen kívül is van előnye a szervezet számára. Mint már említettük, lehetővé teszik, hogy normális körülmények között az őssejtek kis számban legyenek jelen és lassan osztódjanak, ennek ellenére mégis kellő mennyiségű differenciált utódsejt jöjjön létre. De ha váratlanul sürgősen szükség van nagy mennyiségű utódsejtre (például a hámszövet nagyobb sérülése esetén), az őssejteket át lehet kapcsolni sokkal gyorsabb osztódásra, így rövid idő alatt meg lehet sokszorozni akár az őssejteket, akár a differenciált sejtfeleségeket számát.

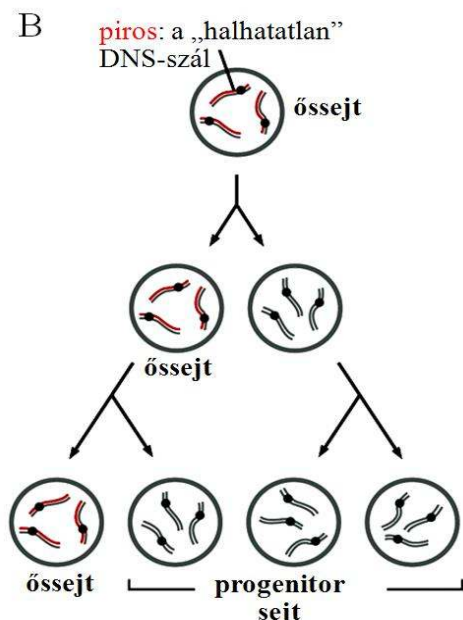
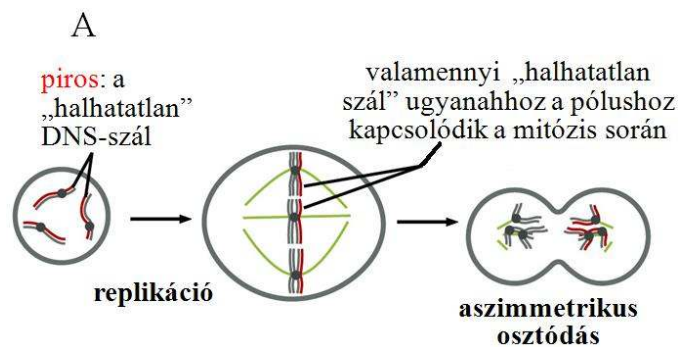
Az őssejtek kis száma és sejtciklusuk lassúsága azt is biztosítja, hogy bennük egy „átlagos” sejthez képest jóval kevesebb mutáció halmozódjon fel, hiszen a genetikai rendellenességek többsége a replikáció és a mitózis során jön létre. A szövet nagy tömegét képező, de már elkötelezett sorsú progenitor sejt utódai ugyanis lecserélődnek, bennük a gyors osztódások során felbukkanó mutációk sokkal kevésbé jelentenek problémát a szervezet számára. Az őssejtek viszont - bár halhatatlanok - kevésbé vannak kitéve a DNS-t károsító hatásoknak.

Az őssejtek genetikai állományának védeltségét többek között egy másik, különleges mechanizmus is biztosíthatja. Ugyanis néhány esetben (például izomsejtekben) bebizonyosodott, hogy az őssejtek aszimmetrikus osztódása során maga az S fázis során replikálódott DNS-állomány sem véletlenszerűen oszlik meg az utódsejtek között. Ez azt jelenti, hogy mindig az őssejt-tulajdonságokat továbbvivő utódba kerül generációról generációra az összes olyan leánykromatida, amelyik már az első őssejtben is benne volt (23.7A ábra). Ezt nevezik a „halhatatlan DNS-szálnak”, és a jelenség csak az őssejtekben figyelhető meg. A mechanizmus jelentősége valószínűleg az, hogy ilyen módon mindig az őssejt tartalmazza az eredeti örökítőanyagot, kiküszöbölve annak a lehetőségét, hogy a replikáció során az új szálnak óhatatlanul felbukkanó mutációk a halhatatlan őssejtben összegyűljenek (23.7B ábra).

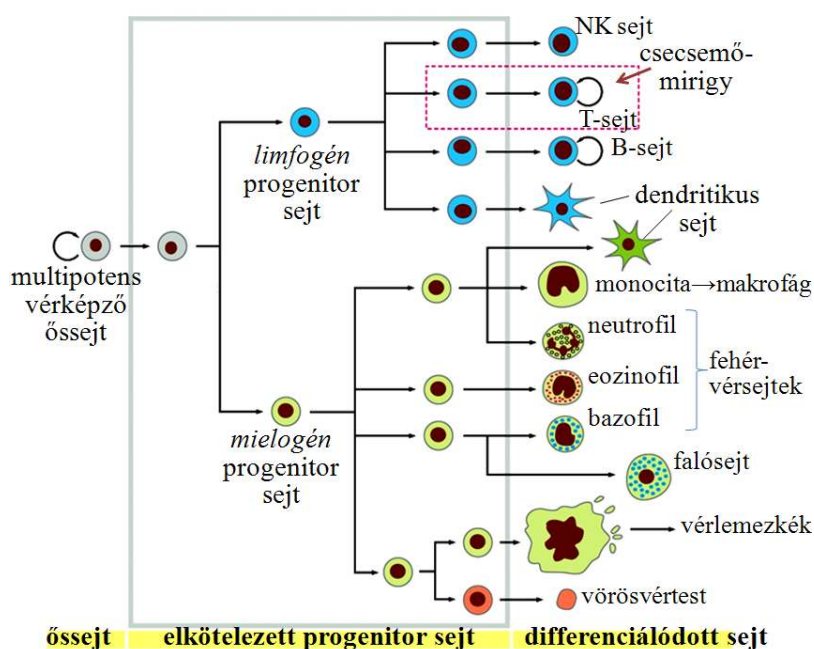
A szöveti őssejtek a gyógyítás szolgálatában

Sok szövet nemcsak önmegújításra, hanem öngyógyításra is képes őssejtjei segítségével (például a már említett hámszövet vagy a máj esetében). Vajon mesterségesen is fel lehet használni az őssejteket, ha a szervezet magától nem tud megbirkózni a sérülés vagy betegség következtében károsodott sejtek pótlásával?

A csontvelőből viszonylag könnyen hozzáférhető véréképző őssejtek (23.8. ábra) esetében a probléma régóta megoldható. A csontvelő-átültetés jól ismert technika, sok esetben lehetővé teszi például a leukémiás betegek gyógyulását. Ekkor a betegekben irányított besugárzással vagy kemoterápiával elpusztítják valamennyi rákos fehérvérsejtet, a véréképző őssejtekkel együtt. Ép csontvelő átültetésével ép őssejtek kerülnek a betegbe, amelyek képesek benépesíteni - most már egészséges vérésejtekkel - a szervezetet.



23.7. ábra A: Az őssejtek a replikáció után megjelölik, külön kezelik az eredeti, szülői DNS-szálat (piros), és ezek a mitózis során ugyanabba az utódsejtbe kerülnek. B: Az őssejtek mindig ugyanazokat a „halhatatlan” DNS-szálat öröklök, amelyek generációról generációra templátként szolgáltak a szintéziskor, tehát a replikáció során bekövetkező véletlen mutációk őket nem érintik.



23.8. ábra A vérképző őssejtől származó differenciált sejttypusok. Szürke keret jelzi a progenitor sejteket.

Ugyanezen az elven génterápia is megvalósítható, valamilyen működésképtelen gén pótlására. Az izolált vérképző őssejteket mesterségesen, sejt kultúrában szaporítják, genetikailag módosítják (belejuttatják a sérült gén ép kópiáját), majd a páciensbe ültetik a módosított őssejteket. Az AIDS gyógyításának érdekében is folynak ilyen kísérletek. Ezek célja, hogy a fertőzött páciens saját vérképző őssejtjeit módosítsák úgy, hogy rezisztensek legyenek a vírusra, és valamennyi, a betegben található fertőzött vérséjt elpusztítása után visszaültetve őket megszüntessék a fertőzést. Hasonló módon próbálkoznak azzal, hogy rákbetegségben szenvedő páciens saját immunrendszeri sejtjeit *in vitro* differenciáltassák oly módon, hogy visszajuttatás után a szervezetben felismerjék és elpusztítsák a daganatos sejteket.

Szintén ígéretes eredményekkel próbálkoznak az életveszélyes, nagy kiterjedésű égési sérülések esetében a hámszövetek pótlásával. A sérült páciens épen maradt bőrfelületéből származó őssejtek alapján mesterséges hámszövetet hoznak létre *in vitro*, amelyet visszajuttatnak a károsodott felületre.

Izgalmas új kutatási terület az idegrendszeri őssejtek vizsgálata. A felnőtt emlős agy és gerincvelő szinte csak terminálisan differenciálódott neuron- és gliasejtekből épül fel, nagyon kis mértékben képes önregenerálódásra, sokáig nem is tartották ezt lehetségesnek. A regenerációt lehetővé tevő, nehezen kimutatható neurális őssejtek létezésére is csak az utóbbi időkben derült fény. Különleges tulajdonságuk, hogy mind ideg-, mind gliasejtek képződhetnek belőlük, valamint az, hogy az idegrendszer bármely pontjára beültetve az adott helyen működő ideg- illetve glia-sejt típus differenciálódik belőlük. Ezért izolálásuk és speciális körülmények között történő *in vitro* szaporításuk után, a remények szerint, hatásos eszközként lehet majd őket felhasználni az idegrendszert érintő neuron-degenerációs vagy a mielinhiány elvesztésével járó (például szklerózis multiplex) betegségek vagy sérülések gyógyítására.

A szöveti őssejtek, a bennük rejlő többféle fejlődési potenciál ellenére, nem képesek gyökeresen eltérő, más szövetfélésekre jellemző sejt típusú differenciálódni. Ezek a különleges sejtek is rendelkeznek „memóriával”, fejlődésük során genetikai állományukban rögzül, hogy a szervezetet felépítő, emberben több mint kétszázféle azonosított sejtfeleségből melyek képződését tegyék lehetővé. A gyógyítás szempontjából azonban nagyon hasznos lenne, ha valamely könnyen izolálható őssejt-típust (például vérképző őssejtet) „rá lehetne venni”, hogy a rá jellemző repertoárt szélesítse – növekedjen a *plaszticitása* -, és más, jóval nehezebben vagy egyáltalán nem hozzáférhető őssejt-típust legyen képes helyettesíteni. Sok orvosi biológiai kutatócsoportban dolgoznak ezen a feladaton, egyelőre áttűtő siker nélkül.

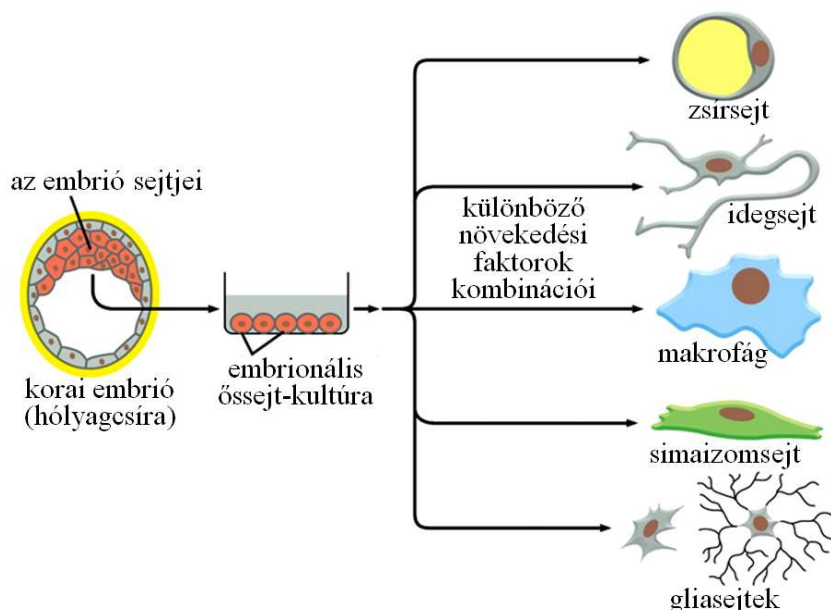
Hozzá kell tenni azonban, hogy a bizakodás nem teljesen alaptalan. Az állatvilág nemcsak olyan alacsonyabbrendű csoportokban, mint a férgek, hanem gerincesekben is szolgált példát nagyobb

testrészek pótlását lehetővé tevő regenerációs folyamatra. A kifejlett göte képes arra, hogy elvesztett lábát néhány héten belül visszanyerje, mert differenciálódott izomsejtjei vissza tudnak térni egyfajta embrionális állapotba, és az embrionális fejlődés során jellemző végtagképződés lépéseit újra le tudják vezényelni.

Embrionális össejtek

A szöveti össejtek tehát a szervezetben elfoglalt helyükre jellemző, egyes esetekben nagyon széles, de mégis behatárolt fejlődési potenciállal rendelkeznek. Van azonban egy olyan sejtfeleség, amelyből a működésbe történő beavatkozás nélkül is kialakulhat gyakorlatilag bármilyen sejt típus. Ez a sejt azonban a korai embrióban található csak meg, kifejlett élőlényben nem.

A korai embrió sejtjei könnyen szétválaszthatóak addig, amíg még nem alakultak ki közöttük szoros sejt kapcsoló struktúrák. Ezeket a sejteket fenn lehet tartani tenyészetben, úgynevezett *embrionális össejt-kultúrát* létrehozva (23.9. ábra). Az így életben tartott sejtek elvileg végtelen számú osztódásra képesek, és emellett a felnőtt szervezet bármilyen sejtjévé tudnak differenciálódni, ezért *pluripotenseknek* nevezik őket („mindenre képes”, azaz toti- vagy omnipotens maga a megtermékenyített pete és néhány sejtosztódásig az utódsejtjei, ezekből a magzatburok és a méhlepény is kifejlődhet). Ha az embrionális össejteket egy másik korai embrió sejtjei közé ültetik vissza, az elfoglalt helytől függően valamennyi szövet és sejt típus kialakulhat belőlük – például a leendő kifejlett állat ivarsejtje is. Ezt használják ki transzgénikus (idegen gént kifejező) vagy knock-out (egy adott gén mesterségesen előidézett hiányával jellemezhető) egerek létrehozásánál is (lásd 13. fejezet).



23.9. ábra Egér embrióból izolált embrionális össejt-kultúrában a sejteket korlátlan ideig fenn lehet tartani. Különböző faktorokat tartalmazó médiumban azonban - a hozzáadott anyagokra adott válaszként - teljesen eltérő irányokba specializálódhatnak.

Megfelelő indukciós jelek alkalmazásával magában a sejttenyésztésben is a legkülönbözőbb szövet- és sejt típusokat lehet előállítani (23.9. ábra). Azonban fontos tudni, hogyha az embrionális össejteket előzetes differenciáltatás nélkül fejlettebb embrióba vagy akár felnőtt egyed szöveteibe ültetik, ott nem természetes közegükben vannak, nem tudják megfelelően értelmezni a környezetükből kapott jeleket, és gyakran daganat keletkezik belőlük.

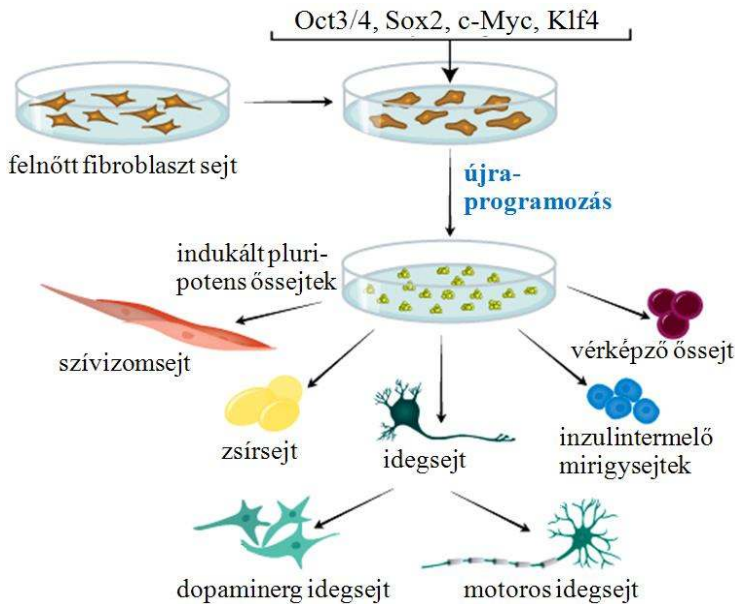
Mindez az emberi embrionális össejtekre is igaz. Azonban amellet, hogy a fentebb bemutatott felhasználásuk rendkívüli lehetőséget jelent az elpusztult emberi sejtek (legyenek azok izom- vagy akár idegsejtek) pótlására, az ilyen kísérletek súlyos etikai problémákat vetnek fel. Ráadásul komoly gondot jelenthetnek a donor sejtek és a fogadó szervezet közötti immunrendszerbeli különbségek, amelyek könnyen a beültetett sejtek kilökődéséhez vezethetnek.

Mindkét problémára megoldást jelenthet, ha saját sejteket lehetne felhasználni a károsodott szövetek pótlására. Az erre irányuló kísérletek egy részében, ahogy már fentebb említettük, saját szöveti össejtek „visszafiatalításával”, embrionális össejthez hasonlóvá alakításával próbálkoznak. Ha ezek eredményre vezetnének, elő lehetne állítani olyan sejt kultúrákat, amelyekben mesterségesen differenciáltotott sejtek alkothatnának a donor egyénnel megegyező genotípusú szöveteket. Így nemcsak beteg, sérült szöveteket lehetne ugyanolyan genotípusú sejtekkel pótolni, de ilyen mesterséges szövet kultúrákon lehetne tesztelni például gyógyszerek hatását, ami valódi egyénre szabott terápiát tenne lehetővé.

Ígéretes kísérletek folynak azzal a céllal is, hogy már differenciálódott donorsejteket változtassanak meg úgy, hogy embrionális össejtként viselkedjenek. Az egyik lehetséges módja ennek az, hogy az élőlények klónozása során alkalmazott eljáráshoz hasonlóan a differenciálódott diploid sejt magját petesejtbe (amelyből a saját sejt magját eltávolították) ültetik át. A hibrid petesejtből *in vitro* körülmények között korai embrió fejlődését indukálják, amelynek sejtjei olyan embrionális össejtek, amelyek genotípusa azonos a donoréval. Emberi sejtekkel azonban ezt még nem sikerült megvalósítani, többek között a differenciált sejtek genetikai állományára jellemző epigenetikai módosulások megléte miatt. Ezek, valamint a nyilvánvaló etikai problémák mellett más is indokolja, hogy már csak néhány laboratóriumban próbálkoznak humán sejt mag-átültetéssel.

A 2012-es Nobel-díj egyik kitüntetettje, a japán Shinya Yamanaka 2006-ban publikált kísérletei bebizonyították, hogy lehetséges a felnőtt szervezet differenciálódott sejtjeit újra embrionális jellegűvé alakítani (ezeket indukált pluripotens össejteknek, iPS-nek nevezik). Ehhez elegendő volt mindössze négy, embrionálisan aktív transzkripció faktor plazmidokban vagy vírus segítségével fibroblaszt sejtekbe juttatni és kifejeztetni (23.10. ábra). Az eljárással előbb egér, később emberi

embrionális össejtekkel egyenértékű és mesterségesen a kívánt fejlődési útra terelhető sejtenyészetet sikerült előállítani. Az össejt-kutatással foglalkozó tudóscsoport nagy része ma úgy gondolja, hogy ez a megközelítés lehet a jövő terápiás alkalmazásainak alapja.



23.10. ábra Emberből származó, differenciálódott sejtől mindössze négy transzkripciós faktor kifejeztetésével embrionális össejthez hasonló tulajdonságokkal rendelkező pluripotens össejt állítható elő. Más kísérletek során az Oct4, Sox2, Nanog és Lin28 transzkripciós faktorok kombinációja is hatásosnak bizonyult.

A SEJTPUSZTULÁS

Egy szervezet méretét az őt alkotó sejtek száma, nagysága és a sejt közötti állomány mennyisége határozza meg. E tényezők közül a sejtszám van domináns szerepe. Egyes fajokban a sejtszám egészen pontosan meghatározott érték. Így például a *Caenorhabditis elegans* nevű fonálféreg 959 testi sejtől áll. A legtöbb fajban a számszabályozás nem ilyen szigorú, de az a tény, hogy a testméret átlagértéke fajra jellemző tulajdonság, arra utal, hogy a sejtszám korlátok közé szorított. A regenerációs kísérletek is azt mutatják, hogy a szervezet valahogyan érzékeli a szerveit, szöveteit alkotó sejtek számát, és ha ez a normális értéknél kevesebb, osztódással pótolja őket (legalábbis akkor, ha osztódásra képes sejteket is tartalmaz a szerv).

A sejtszámot három folyamat befolyásolja: a sejtosztódás növeli, a sejtpusztulás csökkenti, míg a sejtciklusból való kilépés (G_0 állapot) befagyasztja, stabilizálja. Egy adott időpontban az aktuális sejtszámot az szabja meg, hogy a teljes sejtpopuláció mekkora hányada van éppen osztódó, pusztuló vagy stabilizált állapotban, és mennyi ideig tart, milyen gyors az adott folyamat/állapot. Így például az embrionális fejlődés legkorábbi szakaszaiban G_0 fázisú vagy pusztuló sejt nem fordul elő és a sejtciklus nagyon gyors (ahogy fentebb olvashattuk, csak M és

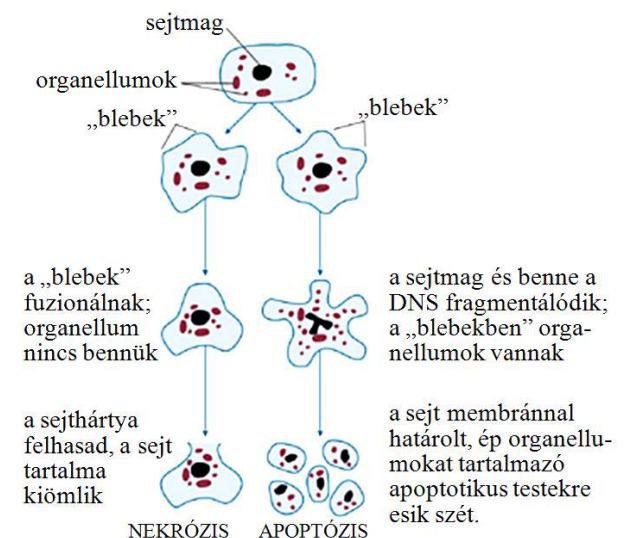
S fázisok váltakozásából áll), aminek eredményeként az ilyen rendszerben a sejtszám robbanásszerűen nő. A sejtosztódás mechanizmusáról, a folyamat szabályozásáról a 22. fejezetben már volt szó. A továbbiakban a sejtpusztulást mutatjuk be, amelynek többféle formája ismert. Leggyakoribb a nekrozis, az apoptózis és az autofágia, ezeket jellegzetes külső bélyegek és a kivitelezés eltérő molekuláris mechanizmusai szerint lehet megkülönböztetni.

A NEKRÓZIS

Nekrozis akkor következik be, ha a sejtet valamilyen váratlan, durva, nem javítható károsodás éri. Ez lehet például mechanikai roncsolódás, mérgezés, hőhatás, sugárkárosodás következménye. Gyakori a nekrotikus sejtpusztulás a keringési zavarok miatt kialakuló oxigénhiányos állapotban.

A folyamatra az jellemző, hogy akár közvetlen sérülés, akár az ionpumpák ATP-hiány miatti leállása miatt a citoplazma és a külső környezet közötti egyenlőtlen ioneloszlást a sejt nem tudja fenntartani, a plazmamembrán permeábilissá válik, a sejtbe nagy mennyiségű víz és kalcium áramlik. Ez számos enzimet, többek között lipázokat, proteázokat aktivál, melyek tovább károsítják a membránokat, és beindul egy önpusztító folyamat.

A nekrotikus sejt megduzzad, a sejtthártya szerkezetének változása miatt több helyen kitüremkedések keletkeznek. Nemsokára a sejt kipukkad, feloldódó anyagai szétszóródnak a környezetébe (23.11. ábra). Ezek az anyagok, elsősorban a fehérjék bomlástermékei, erős kémiai jellegű vonzerőt gyakorolnak a makrofágokra, fehérvérsejtekre, amelyek kilépve a keringésből a pusztuló sejtek környezetébe vándorolnak és részt vesznek a törmelék eltakarításában. A környező kapillárisok átteresztő-képessége is megnő, vérplazmafehérjék áramlanak a nekrotikus területre, gyulladás alakul ki, melyet végül hegképződés zár le.



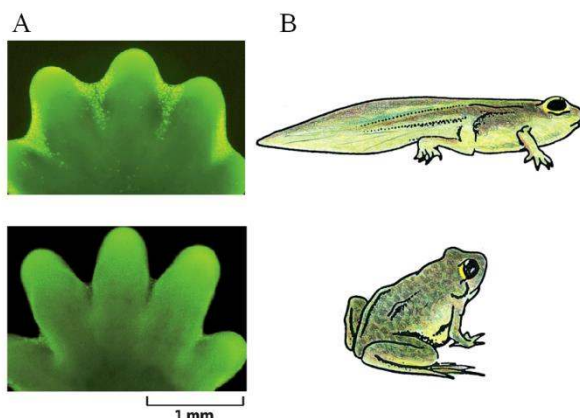
23.11. ábra A nekrotikus és az apoptotikus sejt között mikroszkóposan azonosítható különbségek vannak. A folyamatok következménye is más: a nekrozis helyén gyulladás alakul ki, az apoptotikus sejteket nyom nélkül bekebelezik a környező sejtek.

AZ APOPTÓZIS

A sejtpusztulás másik formája, az *apoptózis* ettől eltérő módon zajlik le. Az apoptotikus sejtek zsugorodnak, felszínükről membránnal határolt kisebb-nagyobb citoplazmadarabok fűződnek le, sejtmagjukban a kromatin erősen kondenzálódik, majd a mag maga is fragmentálódik. A szétesett sejt darabjait makrofágok vagy a szomszéd sejtek bekebelezik és megemésztik. Az apoptózis során a plazmamembrán integritása végig megmarad (23.11. ábra), de összetétele módosul: a membrán külső rétegében foszfátidilszerin jelenik meg. Szomszédai és az immunrendszer szövetekben található falósejtjei, a makrofágok ennek alapján ismerik fel az apoptotikus sejtet és ez váltja ki a bekebelezési reakciót. Az épen maradt sejtthártya és a gyors bekebelezés miatt a környezetbe bomlástermékek nem áramlanak ki, így gyulladás és az azt követő – szöveti átrendeződéssel járó – hegképződés nem lép fel. A folyamat gyors, néhány óra alatt lezajlik.

Az apoptózis evolúciósan konzervált önpusztító folyamat, mely a gerinctelen és gerinces állatok sejtjeiben azonos lépésekben megy végbe és a kivitelezéséért felelős molekulák is hasonlóak. Szigorúan szabályozottan, speciális külső vagy belső hatásokra megy végbe, ezért az apoptózist gyakran nevezik a *programozott sejtihal* I. típusának is (a II. típus a később tárgyalt autofágia).

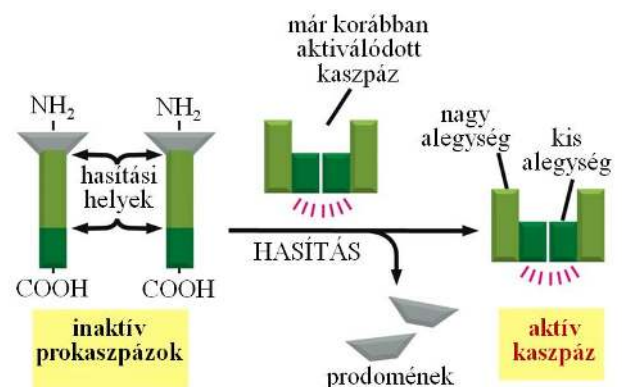
Az apoptózis jelentősége, funkciója sokrétű. Az egyedfejlődés során a felesleges sejtek eltávolításával segít beállítani az optimális sejtszámot (23.12A ábra). Felnőtt szervezetben kiegyensúlyozza a sejtszámnövelő hatását és megszabadítja a szervezetet saját meghibásodott sejtjeitől. Apoptózissal történik a funkcióvesztett lárvális szövetek eltávolítása a metamorfózis során (23.12B ábra). Az előzőekben említett *C. elegans* fonálféreg egyedfejlődése során például 1090 testi sejt keletkezik, melyek közül 131 apoptózissal elpusztul, és így áll be a faj egyedeire jellemző 959-es sejtszám.



23.12. ábra Két példa a fejlődés során normálisan bekövetkező apoptózisra. A: a felső kép egy fejlődő emlős (egér) ujjait mutatja, a sárgás színű sejtekben már zajlik az apoptózis. Az alsó kép egy nappal később készült, az ujjak közötti szövetet alkotó sejtek már eltűntek. B: Az ebihal (felső kép) metamorfózisa során a pajzsmirigyhormon szintje emelkedik, ennek hatására a farok sejtjeiben indul be az apoptózis. A kifejlett békának (alsó kép) már nincs farka.

Az apoptózis molekuláris mechanizmusa

Az apoptózist egy speciális enzimrendszer hajtja végre, melynek tagjai a sejtekben eleve jelen vannak. A rendszer fő komponensei a *kaspázoknak* nevezett fehérjebontó enzimek, amelyek nevüket (caspase) egy, az aktivitásukban szerepet játszó ciszteinről és arról kapták, hogy aszparagin mellett hasítják célfehérjéiket (C és asp). A kaspázok “veszélyes” enzimek, mert elpusztítják saját sejtjüket. Nem véletlen, hogy működésük szigorúan szabályozott. Inaktív prokaspáz formában képződnek és tárolódnak a sejtekben, és aktiválásukhoz a molekula proteolitikus hasítása szükséges (23.13. ábra). Az inaktivitást biztosító prodomének eltávolítása után tudják funkciójukat betölteni.

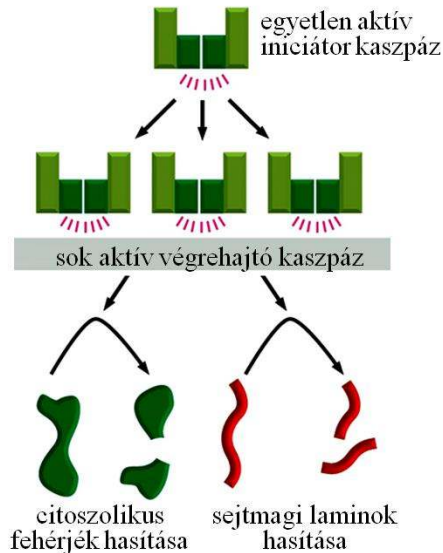


23.13. ábra A prokaspázok aktiválódása az apoptózis során. Minden kaspáz inaktív proenzimként szintetizálódik, majd a megfelelő helyen bekövetkező proteolitikus hasítás után (amit sokszor már működőképes kaspázok hajtanak végre) aktiválódnak.

A kaspázok egy része az apoptózishoz vezető folyamatsor elején aktiválódik, ezek az *iniciátor kaspázok*. Ők aztán hasítással aktiválnak más, úgynevezett *végrehajtó kaspázokat*, amelyek további kaspázokat és/vagy lebontandó specifikus célfehérjéket hasítanak a proteolitikus kaskád végén (23.14. ábra). A célfehérjék közé tartoznak például a sejtmembránról belülről bélelő intermedier filamentumok, a laminok – ez okozza a sejtmembrán struktúrájának felbomlását. Másik fontos célpont egy DNS endonukleázt blokkoló fehérje. Ennek lebomlása miatt a felszabaduló endonukleáz a nukleoszómák között elhasítja a DNS-t, amelynek jellegzetes, “létraszerű” fragmentálódása az apoptózis egyik molekuláris markere. A végrehajtó kaspázok ezen kívül megtámadják a sejtvázas és a sejtkapcsoló struktúrák fehérjéit is, az apoptotikus sejtek leválnak szomszédaikról, gömbölyűek lesznek és a kortikális aktinvázas hiányában nagy kitüremkedések, “blebek” jelennek meg rajtuk (23.11. ábra).

A prokaspázok (és más, az apoptózishoz szükséges szabályozó fehérjék) az embrionális fejlődés elejétől jelen vannak a sejtekben. Hogyan aktiválódnak az első iniciátor prokaspázok? Megfelelő jel hatására (erről később lesz szó) adapter fehérjék hozzák fizikai közel-

ségbe őket egy aktivációs komplexbe. Két iniciátor prokaspáz számára a szoros közelség elegendő ahhoz, hogy egymást kölcsönösen hasítsák és ezáltal aktiválják – a folyamat innentől kezdve visszafordíthatatlanul megkezdődik, elindul a proteolitikus kaszkád, amely felerősíti és szétterjeszti a sejtben a “halálszignált” (lásd 23.15. ábra).

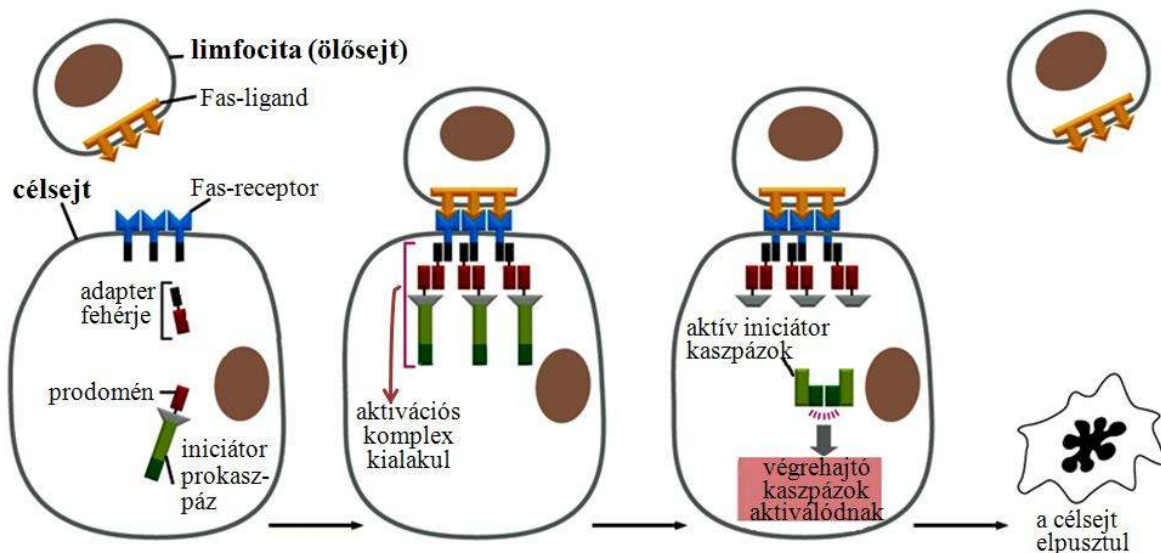


23.14. ábra Elsőként az iniciátor kaspázok aktiválódnak, majd az általuk hasított végrehajtó kaspázok működése eredményezi az apoptózisra jellemző bomlási folyamatok bekövetkeztét. Ez az úgynevezett „kaspáz-kaszkád”.

A kaspáz-kaszkádot aktiváló jelátvitel indulhat a sejtten kívülről (extrinsic útvonal) és belülről is, a sejt saját döntése nyomán (intrinsic útvonal). A két útvonal saját “különbejárátú” iniciátor prokaspázokkal és aktivációs komplexszel indul.

Az **extrinsic útvonal** az apoptotikus sejtpusztulás kívülről „kikényszerített” változata, amely az immunrendszer erre szakosodott limfocitái, a citotoxikus T-sejtek és a természetes ölüsejtek közreműködésével valósul meg. Célsejtjeik a szervezet vírussal fertőzött, vagy daganatos sejtjei, melyek felszínén olyan fehérjék vagy fehérjefragmentumok jelennek meg, melyeket a citotoxikus sejtek idegenként azonosítanak. A kétféle sejt kontaktusba kerül, majd az immunsejt kiváltja a célsejt pusztulását.

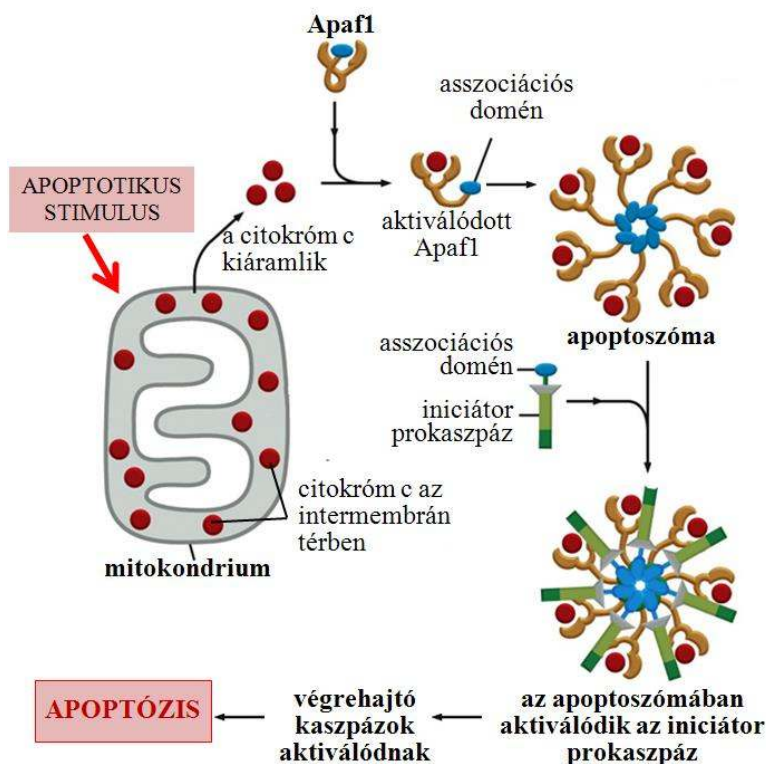
Az extrinsic útvonal aktiválódásában *sejtfelszíni halálreceptorok* játszanak szerepet. A receptorok homotrimer transzmembrán fehérjék, a tumor nekrosis faktor (TNF)-receptorok családjába tartoznak. Az apoptózist kiváltó két legismertebb tagjuk maga a névadó TNF-receptor, illetve a Fas receptor. Ligandjaik (TNF illetve Fas-ligand) szintén homotrimer transzmembrán fehérjék, az említett immunsejtek felszínén találhatóak meg. A ligandum-receptor kapcsolódás aktiválja a receptort, melynek sejtten belüli részén adapter molekulákon keresztül azután kialakul az aktivációs komplex, és beindítja a kaspázok működését (23.15. ábra). Vannak olyan sejtípusok, amelyekben az aktivált halálreceptorok az intrinsic útvonalban (lásd később) szerepet játszó fehérjéket is serkentenek. Mindezen hatások eredményeként a célsejt kikényszerített apoptózisba lép és elpusztul, megakadályozva ezzel a vírussal fertőzött vagy kóros sejtek szervezeten belüli elszaporodását.



23.15. ábra A külső hatás, itt ölüsejtek kapcsolódása miatt bekövetkező extrinsic apoptózis halálreceptorok (az ábrán a Fas-receptor) aktiválódásán keresztül zajlik. Adapterfehérjék közvetítésével ekkor összeszerelődik egy aktivációs komplex, amely megfelelő közelségbe hozza az iniciátor prokaspázokat (procaspase-8 és/vagy procaspase-9) ahhoz, hogy egymást hasítsák. Ezután beindul a kaszkád, a sejt elpusztul.

Sok sejt képes gátló fehérjékkel redukálni az extrinsic útvonal aktiválódásának esélyét. Expresszálhatnak például „csali”-(decoy) receptorokat, amelyek megkötik a halál-ligandot, de citoszolikus felszínükről hiányzik az aktivációs komplex összeállításához szükséges domén; vagy kifejezhetnek iniciátor prokaspázokhoz hasonló, az adapterekhez kötődő fehérjéket, amelyek nem képesek proteolízisre.

A sejt belső döntése által elindított **intrinsic útvonal** szabályozásában kulcsszerepe van a mitokondriumoknak, melyekben egy erős kaspáz-aktiváló fehérje, a citokróm c lokalizálódik. A citokróm c az elektrontranszportlánc egyik tagja (lásd 2. fejezet), normális körülmények között a belső membrán intermembrán tér felé néző oldalán koncentrálódik. Azonban a mitokondrium külső membránszerkezetének megváltozása vagy sérülése miatt kidiffundálhat a citoszolba, ahol közvetve egyes kaspázokat aktivál (23.16. ábra).



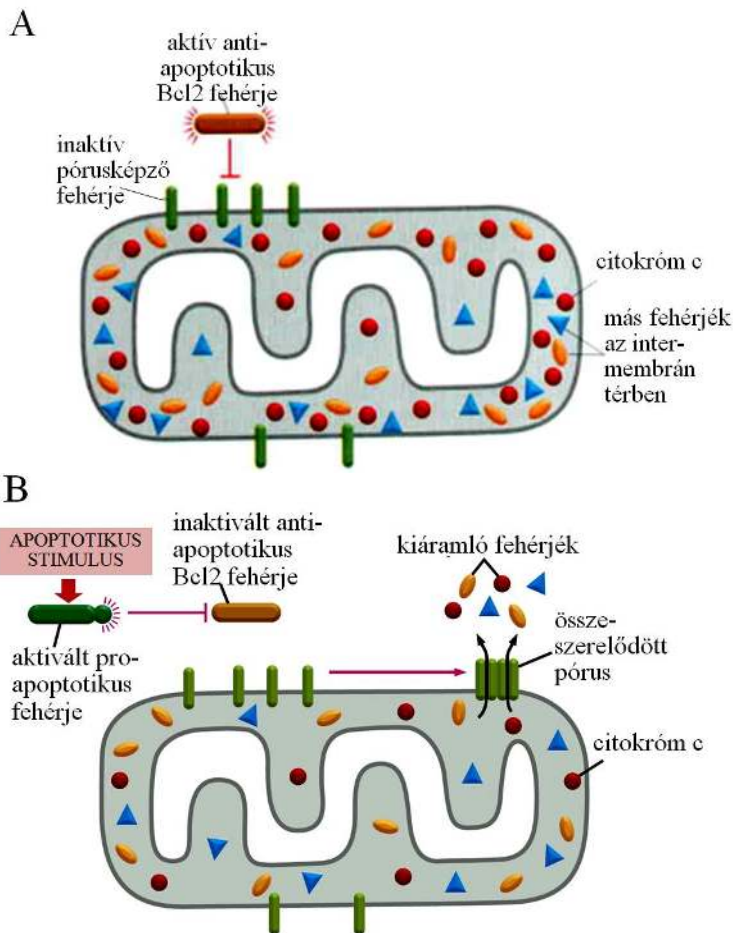
23.16. ábra A sejt saját döntése alapján beinduló intrinsic apoptózis központi eseménye, hogy a mitokondrium külső membránjának áteresztőképessége megváltozik. A kiáramló citokróm c az Apaf1 (apoptotic protease activating factor 1) nevű adapterfehérjéhez kötődik. Az adapter szerkezeti változáson esik át, és egy héttagú komplexbe, az apoptoszómába szerveződik. Iniciátor prokaspázok (procaspase-9) kapcsolódnak az apoptoszómába, aktiválódnak, majd elindul a proteolitikus kaskád.

A kiáramlás a mitokondriumok külső membránján található pórusokon keresztül történik. A pórusok működését a *Bcl2 fehérjecsaldába* tartozó fehérjék ellenőrzik. A Bcl2 család egyaránt tartalmaz *proapoptotikus* (a citokróm c kiáramlását, azaz az apoptózist elősegítő) és *anti-apoptotikus* (a kiáramlást, így az apoptózist gátló) tagokat (23.17. ábra). A sejt ugyanis számos ponton szoros ellenőrzés alatt tartja az intrinsic útvonalat, hogy az öngyilkos program akkor és csak akkor induljon be, mikor szükséges. Talán nem meglepő, hogy a Bcl2 család tagjai, a kaspázokhoz hasonlóan, erős evolúciós konzerváltságot mutatnak: az anti-apoptotikus emberi Bcl2 fehérje például a *C. elegans* fonalféregben is gátolja a sejthalál bekövetkezését.

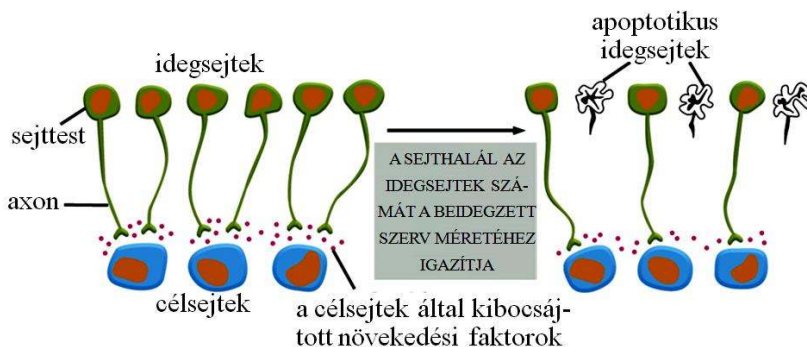
Az apoptózist számos, a szervezetben termelődő anyag befolyásolja. Gátló hatásúak lehetnek a különböző növekedési faktorok és hormonok. A fejlődő idegrendszer neuronjai például jelentős feleslegben képződnek, és kb. 50%-uk elpusztul az egyedfejlődés korai szakaszaiban (23.18. ábra). Ennek az a magyarázata, hogy csak azok a neuronok maradnak meg, melyek kapcsolatot tudtak létesíteni célszerveikkel és hozzájutnak az ezek által termelt növekedést fenntartó faktorokhoz. A növekedési faktorok jelenlétét a sejtek receptoraik segítségével érzékelik. Az apoptózist gátló hatás többek között azon alapul, hogy a jel a sejtben a Bcl2 család proapoptotikus tagjainak működését gátolja. A hibás kapcsolatot kialakító vagy a célszervhez későn érkező neuronok (pontosabban nyulványaik) már nem, vagy csak kevés ilyen faktort kaphatnak, és ez nem elegendő az apoptotikus folyamat gátlásához.

Apoptózist gátló hatásúak a hím nemi hormonok a járulékos ivarmirigyek sejtjeiben. Kasztrálás, androgénhiány például néhány napon belül tömeges sejtpusztulást okoz a prosztatában. Más hormonok apoptózist indukáló hatásúak. Így például a tiroxin (a pajzsmirigy egyik hormonja) tömeges apoptózist okoz az ebihalak lárvális szöveteiben, ami a metamorfózis természetes velejárója (23.12 B ábra). Az A-vitamin és származékai a végtagbimbók szövetében a leendő ujjpercek közötti sejtek elhalását indukálják, és ez teszi lehetővé az ujjak formálódását (23.12 A ábra). Ezek a példák mutatják, hogy a sejtpusztulás a normális egyedfejlődés természetes és szükségszerű velejárója.

Azonban gyakori, hogy az apoptózist nem a belső mielő természetes változásai, hanem valamilyen váratlan károsító hatású esemény váltja ki. Az egyik leggyakoribb ilyen esemény a DNS-szálltörés, mely bekövetkezhet különböző vegyületek vagy sugárzás hatására. Mint arról a 22. fejezetben már szó volt, az osztódásra képes sejtek ilyenkor a G₁/S fázis határán megállnak, mert a p53 fehérje közreműködésével egy CDK-inhibitor, a p21 kezd termelődni. Ha a hibát sikerül kijavítani, a ciklus folytatódik. Ellenkező esetben a p53 indukálja a Bcl-2 család pro-apoptotikus tagjait és beindul az apoptózis intrinsic útvonala, a sejt önpusztítással akadályozza meg, hogy hibás DNS-készlettel rendelkező utódok jöjjenek létre.



23.17. ábra A Bcl2-család tagjai között pro- és anti-apoptotikus fehérjék is találhatóak. **A:** A névadó Bcl2 anti-apoptotikus hatású, akadályozza a citokróm c (és egyéb fehérjék) kiáramlását a mitokondriumból. A gátlás célpontja egy pro-apoptotikus pórusképző fehérje, amely így nem képes oligomerizálódva csatornát kialakítani a külső membránban. **B:** Apoptotikus stimulus hatására inaktiválódik a Bcl2, létrejöhét a pórus, kiáramlik a citokróm c és beindulhat a kaspáz-kaskád.



23.18. ábra A fejlődés során sokkal több idegsejt képződik, mint amennyi végül megmarad. Csak azok a sejtek maradnak életben, amelyek a célterületen elegendő mennyiségű, a túlélést biztosító jelet kapnak. Ezzel a stratégiával valamennyi célsejt kapcsolatot tud létesíteni idegsejttel, a felesleges neuronok pedig eliminálódnak.

Az apoptózist szabályozó mechanizmusok károsodásának súlyos következményei lehetnek. Számos tumor esetében kimutatták, hogy valamelyik apoptózist indukáló gén (sokszor éppen a p53) hibája miatt a daganatos fejlődés útjára léptek sejtek nem hajtják végre az önpusztító programot, és ez vezet – többek között – a hibás sejtek elszaporodásához. A p53 funkcióvesztéses mutációja tehát azért is járul hozzá olyan gyakran a daganatképződéshez, mert nemcsak a sejtciklus egy fontos kontroll-mechanizmusa sérül, hanem mert a genetikailag hibás sejtek az apoptózist is elkerülik. Az apoptózist szabályozó Bcl2 család névadó tagja is arról a daganatfejlődésről (B-cell lymphoma) kapta a nevét, amelyből először izolálták és azonosították.

Az autofágia

A sejtpusztulás megvalósulhat *autofágiával* is - ezt a folyamatot a 10. fejezet mutatta be (lásd 10.14. ábra). Az autofágia közreműködésével bekövetkező sejthalál az autofagoszómák és a lizoszómák egyesülésével létrejött autolizoszómák tömeges felhalmozódása jellemzi az érintett sejtben, a degradációt pedig nem kaspázok, hanem lizoszomális enzimek végzik. Normális körülmények között az autofág aktivitás alacsony, de külső hatásra annyira felerősödhet, hogy ez a citoplazma nagy részének elvesztéséhez és ennek következtében sejtpusztuláshoz vezet. Intenzív autofágia figyelhető meg például rovarok lárvális szöveteiben a lárva-báb átalakulás során, vagy különböző idegrendszeri megbetegedésekben szenvedők pusztuló neuronjaiban (például Parkinson-kór). Gyakori, hogy egy sejtben a pusztulási folyamat autofág hullámmal kezdődik, majd átmegy apoptózisba.

FELHASZNÁLT IRODALOM:

Kovács János: Sejtten (Eötvös Kiadó, 2005)
Alberts: Molecular Biology of The Cell, 2008