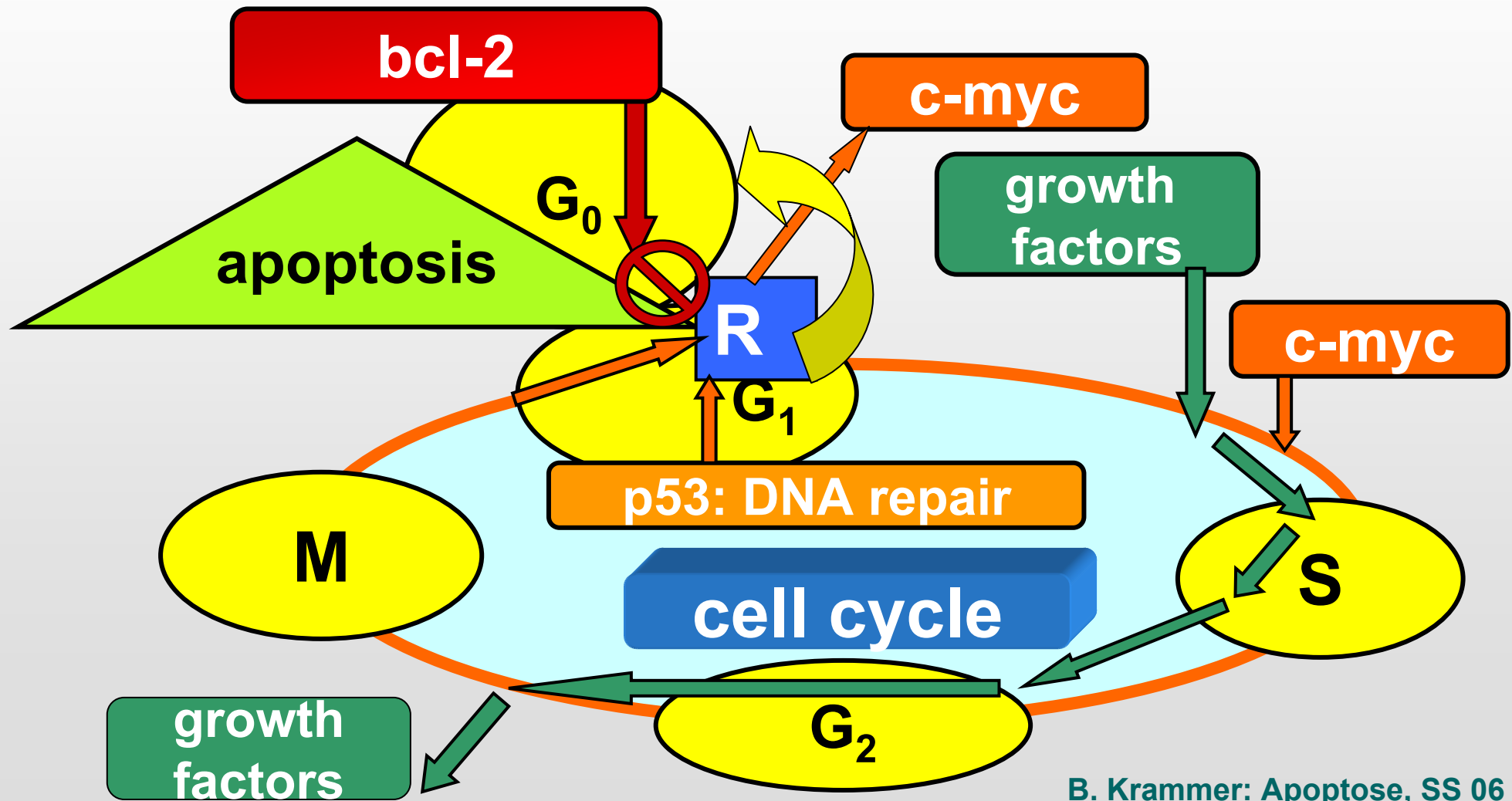


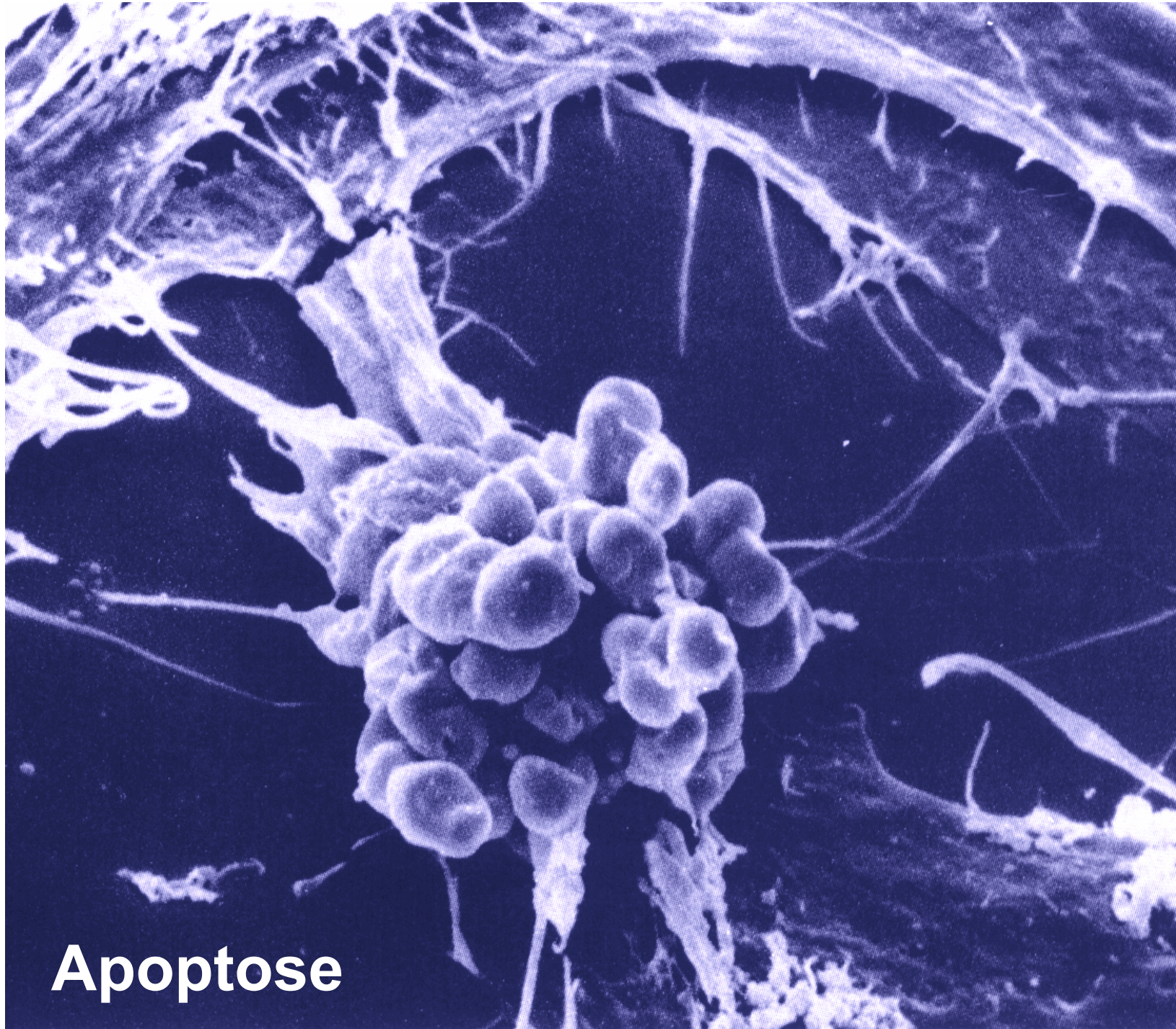
Probleme im Zellzyklus

Kontrolle des Zellzyklus stellt irreparable Schäden oder das Fehlen wichtiger Signale fest: Beginn des Endes? (Selbstmord der Zelle)

Kontrollverlust im Zellzyklus: Beginn eines Tumors?

Die Rolle der Gene c-myc, bcl-2 und p53, bzw. deren Genprodukte in Zellzyklus, Apoptose und Tumorentstehung



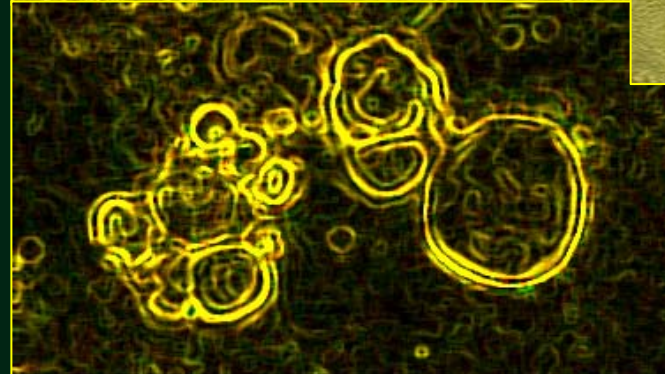
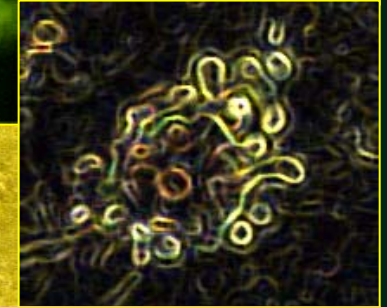
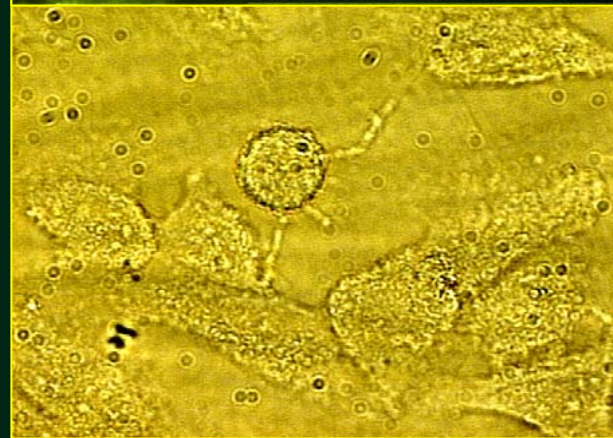
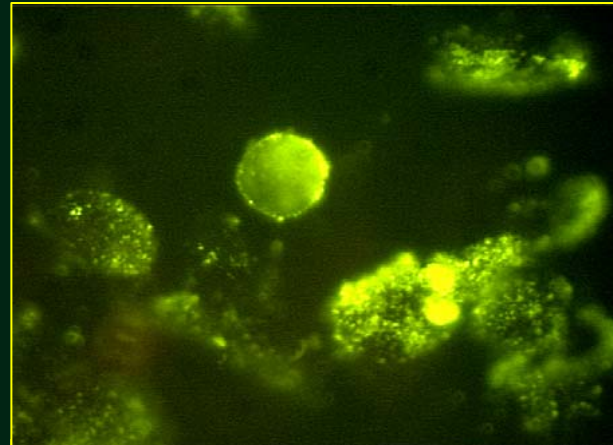
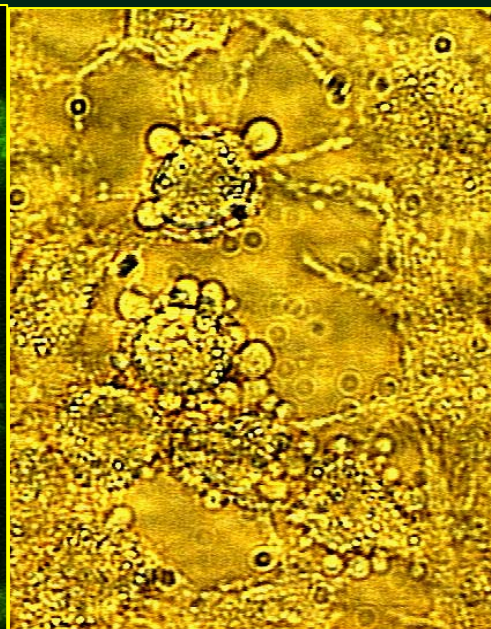
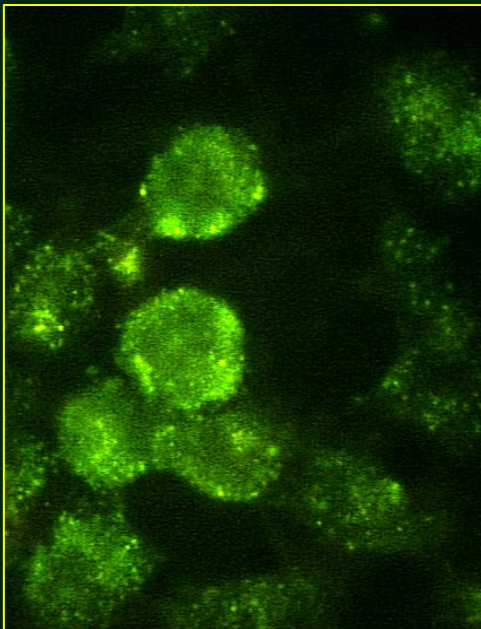


Apoptose

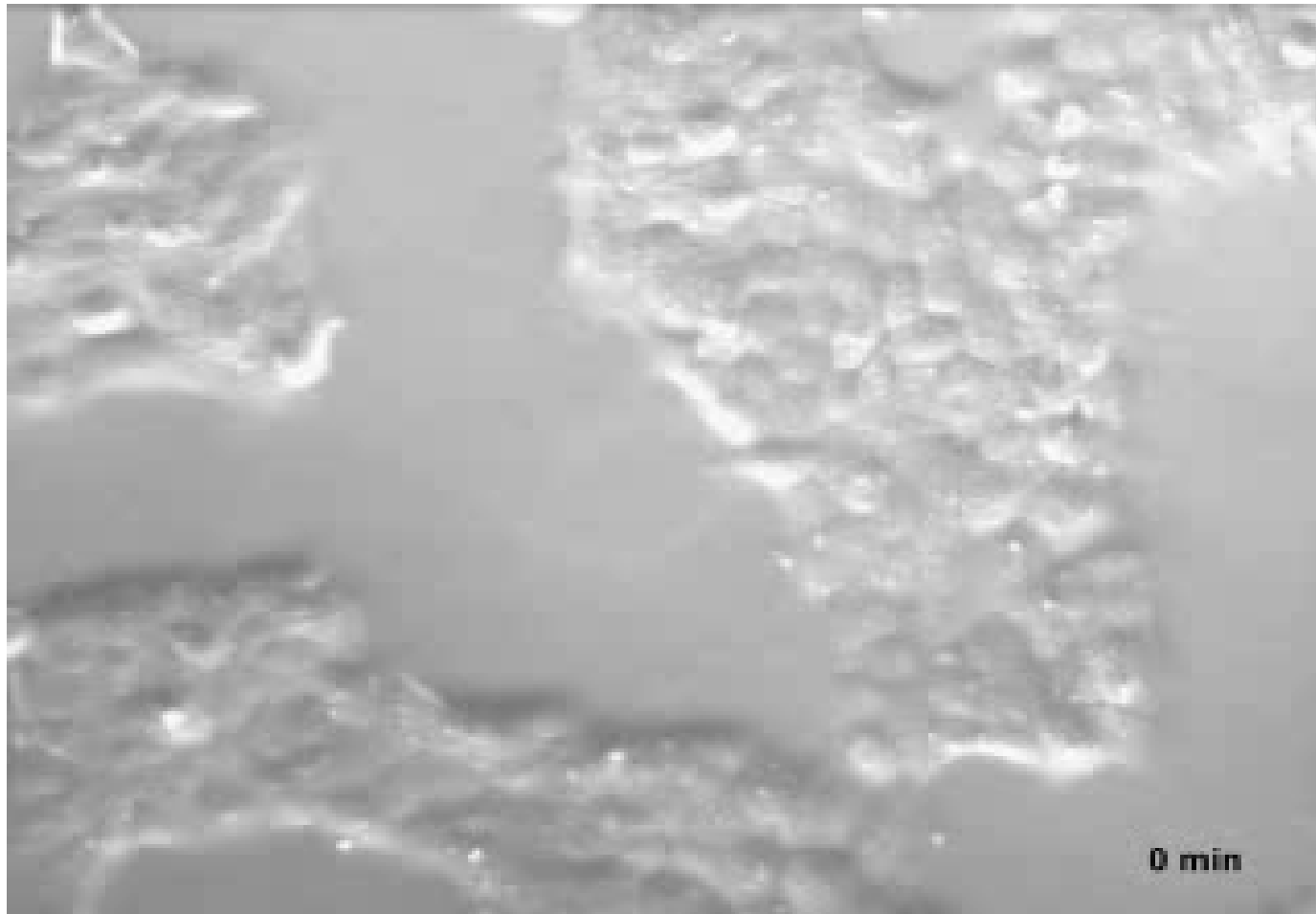
Apoptose oder programmierter oder physiologischer Zelltod (Zell-Selbstmord)

Fluoreszenzbild:
Annexin V-FITC
und Propidium
Iodide Färbung

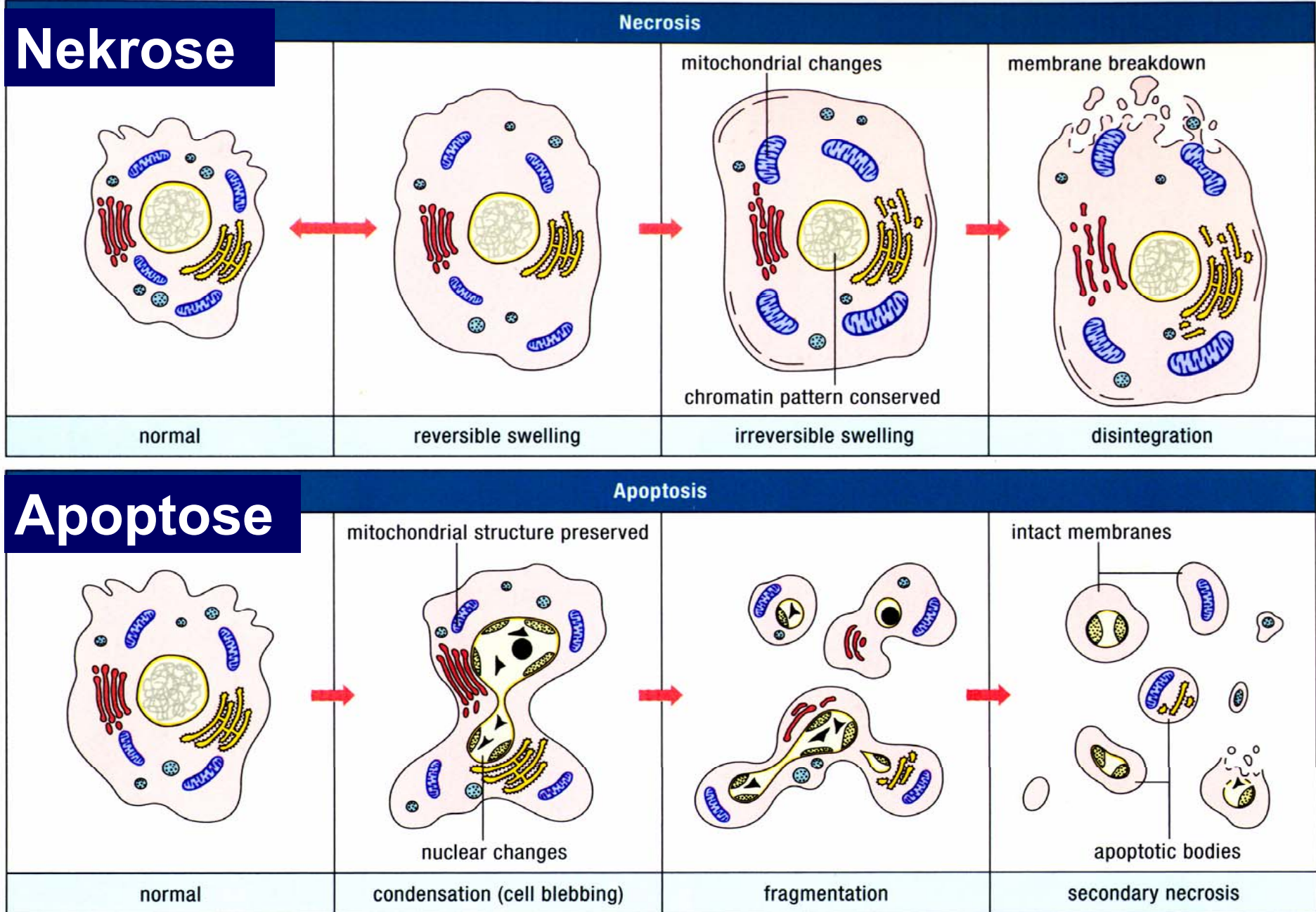
entsprechendes
Transmissions-
Bild



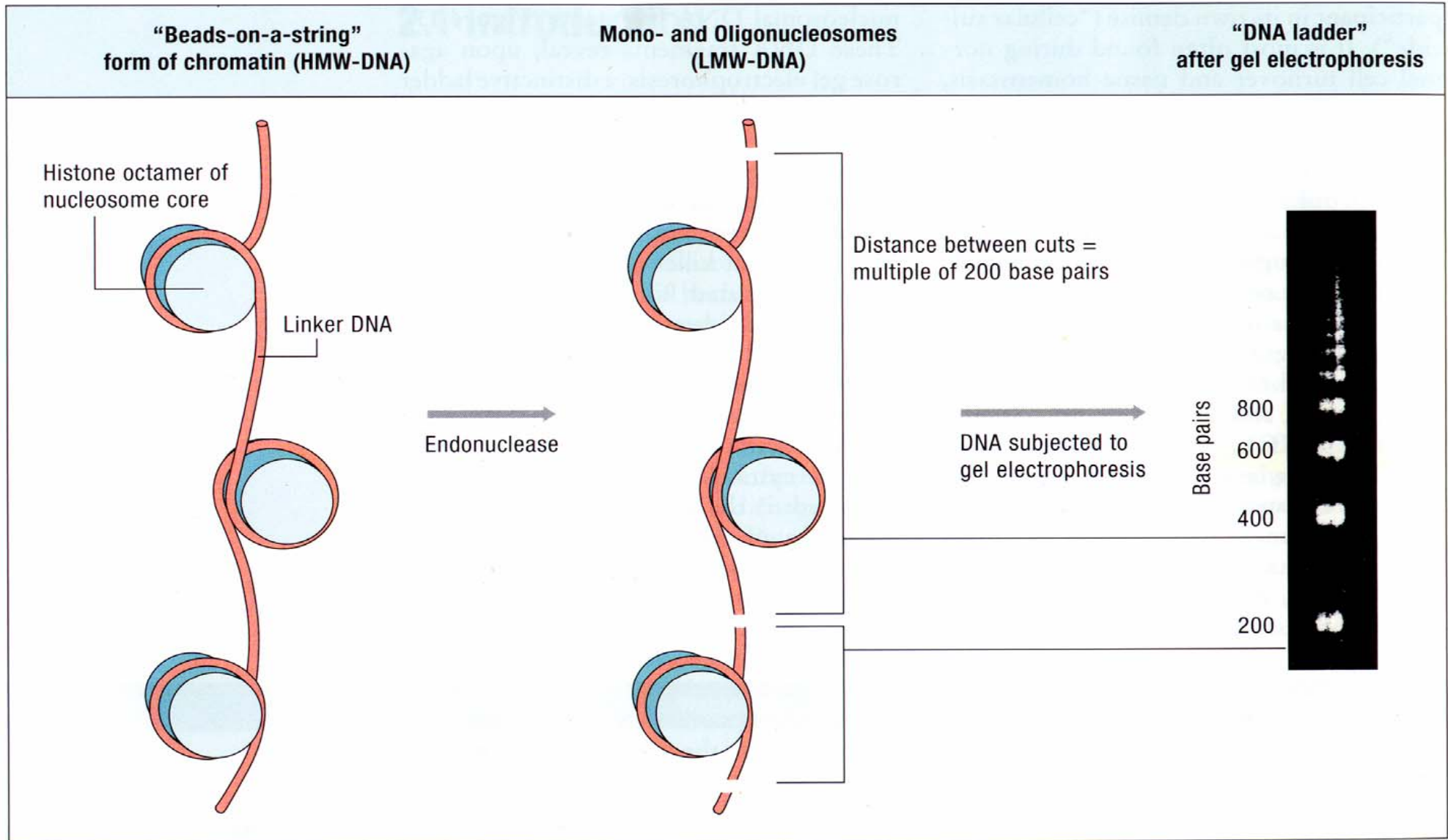
Menschliche Carcinom-Zellen nach UV-Behandlung



Apoptose / Nekrose morphologisch



Apoptose: DNA-Fragmentierung

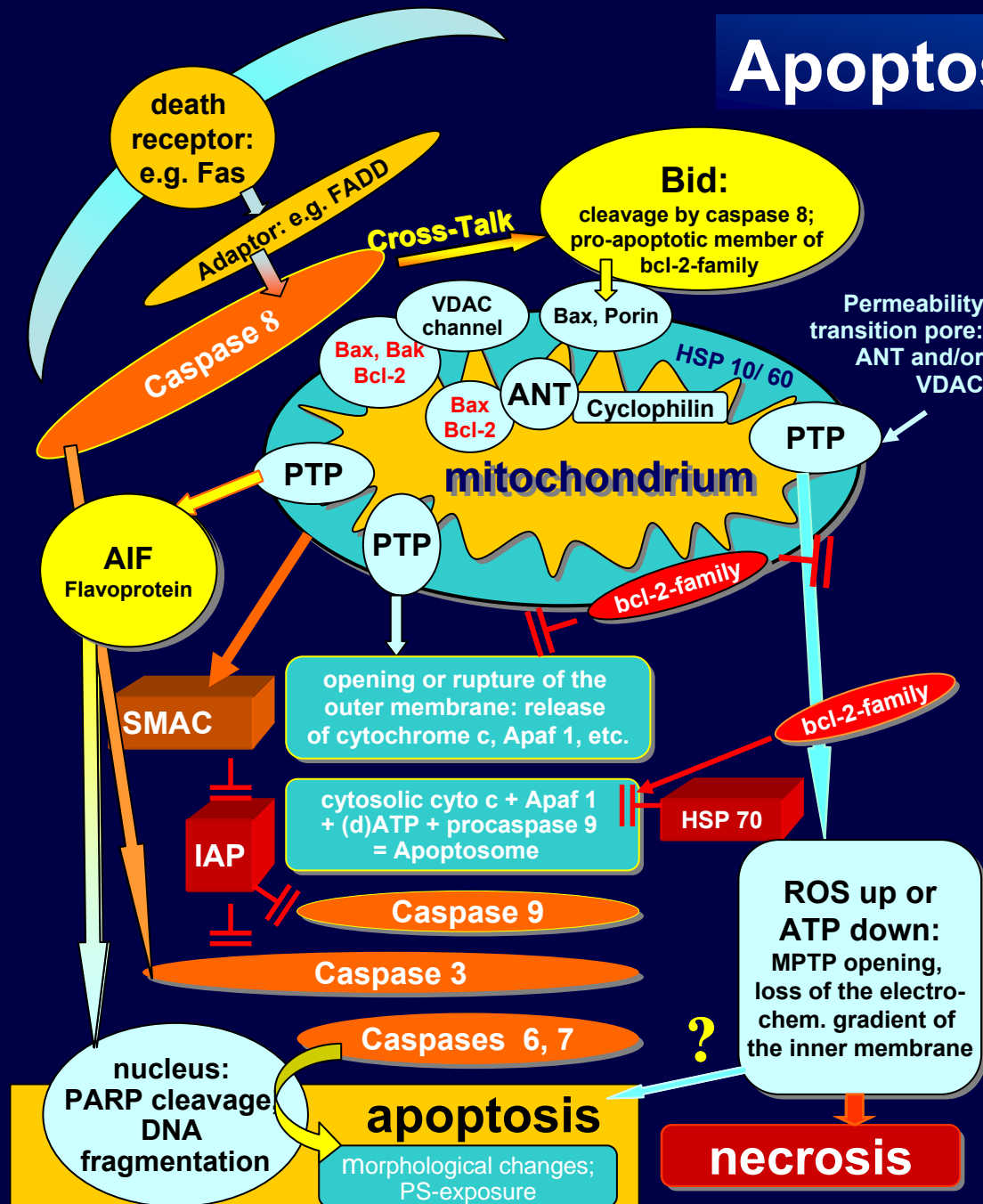


Beispiele für Apoptose

Apoptose beim Wirbeltier in Entwicklung und beim fertigen Individuum:

- ❖ **Keratinocyten gehen nach 21 Tagen in Apoptose**
- ❖ **Linse im Auge besteht aus toten Zellen**
- ❖ **T-Zell-Selektion im Thymus**
- ❖ **Jede Stunde sterben Milliarden von Zellen in Knochenmark und Darmepithel**
- ❖ **Gebärmutterschleimhaut bei Menstruation**
- ❖ **Im entwickelnden Nervensystem der Wirbeltiere sterben 50% der Nervenzellen kurz nach der Entstehung wieder ab.**
- ❖ **Apoptose kann bei Osteoporose, Netzhautdegeneration, Alzheimer-, Parkinson-Krankheit, etc. eine Rolle spielen.**

Apoptose Wege



The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology (Skulachev VP, Exp. Gerontol. 36 (2001) 995-1024)

Das Gesetz des Samurai in der Biologie:

“Es ist besser zu sterben als verkehrt zu sein“.

Gemäß diesem Prinzip sichert sich ein lebendes System gegen die Degeneration genetischer oder anderer sehr komplizierter Programme ab, die sich innerhalb sehr langer Zeiträume biologischer Evolution entwickelt haben. Das Gesetz des Samurai bedeutet, daß ein lebendes System immer bereit ist, Selbstmord zu begehen. Es bringt sich selbst um, wenn es „merkt“, daß es nutzlos oder sogar gefährlich für das nächsthöhere System geworden ist.

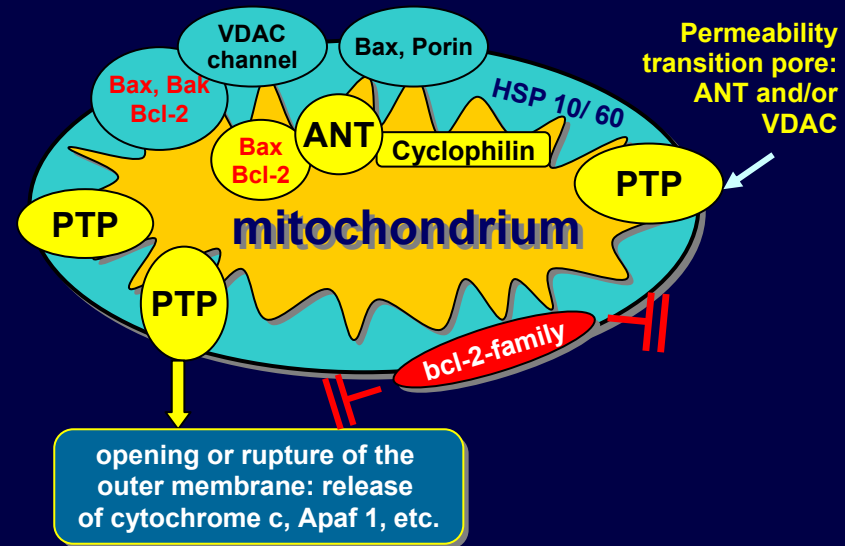
B. Krammer: Apoptose, SS 06

The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology

Apoptose, der programmierte Zelltod

- 1. Verschiedene Wege;*
- 2. Erhöhte ROS Produktion als Auslöser*
- 3. Intrinsischer Weg*
- 4. Extrinsischer Weg*
- 5. Ursachen der Apoptose: allgemein*
- 6. Apoptose-Induktion durch DNA-Schaden. Rolle des p53*

Apoptose Wege: die Rolle des Mitochondriums



1. Verschiedene Auslöser (wie massive Mitoptose, Todessignal, alle möglichen chemische und physikalische Einflüsse) induzieren Apoptose in der Zelle, bzw. senden Signale an die Mitochondrien (z.B. aus dem Kern nach DNA Schaden) - *Mitochondrium als Weichensteller*

a) der mitochondriale oder intrinsische Weg

b) der rezeptorvermittelte oder extrinsische Weg

2. Erhöhte ROS Produktion als Auslöser

ANT (Adenin Nukleotid Translocator) in der inneren Mitochondrien-Membran ist bi-funktionales Protein:



durch Oxidation mit ROS wird es von einem Nukleotid-Antiporter (ADP/ATP-Translokator) in einen nicht-spezifischen Kanal (oder: pro-apoptotischen Pore) unter der Kontrolle der Bax/Bcl-2-Familie umgewandelt; Pore wird dann permeabel für Substanzen < 1.5 kDa.

Die ansteigende Proteinkonzentration der Matrix wird mit Wasser osmotisch ausgeglichen, wodurch es zur Matrix-Schwellung und dann zum Zerreißen der äußeren Mitochondrien-Membran kommt. So gelangten apoptogene Faktoren aus dem Intermembranraum ins Cytosol.

B. Krammer: Apoptose, SS 06

The voltage-dependent anion channel: an essential player in apoptosis, Tsujimoto Y. and Shimizu S., Biochimie (2002)

3. Mitochondrialer (intrinsischer) Weg:

Innere Mitochondrienmembran: s. ANT

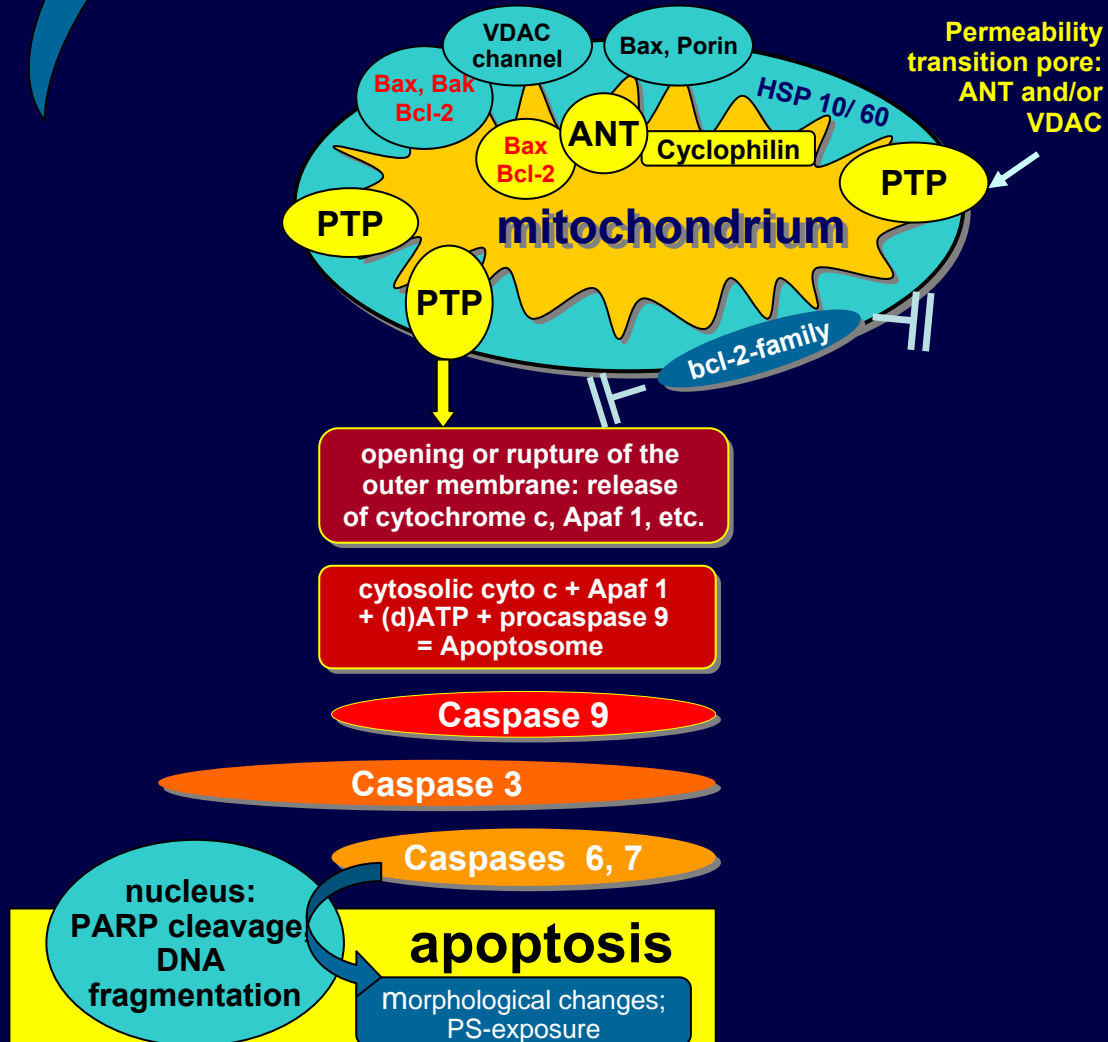
Äußere Mitochondrienmembran: VDAC

Erhöhung der Permeabilität der äußeren mitochondrialen Membran wesentlich für Apoptose, um apoptogene Faktoren ins Cytoplasma zu entlassen.

Dazu wird VDAC (voltage dependent anion channel) durch die **Bcl-2-Familie** mittels direkter Interaktion reguliert.

ANT und VDAC bilden zusammen meist die Permeability Transition Pore (PTP)

Apoptose Wege: der interne Caspaseweg



B. Krammer: Apoptose, SS 06

The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology

Mitochondrialer (intrinsischer) Weg: Ausführung der Apoptose

Freisetzen von Intermembran-Proteinen ins Cytosol durch Platzen (ANT) und/ oder Öffnen der äußeren Mitochondrien-Membran (VDAC):

1) Cytochrom c

2) Procaspase 9

Cytochrome c + APAF-1 (apoptosis activating factor) + dATP + Procaspase 9
= Apoptosom

⇒ Caspase 9 ⇒ Caspase 3, dann 6, 7. Procaspase 9 liegt in manchen Geweben häufig im Intermembran-Raum.

B. Krammer: Apoptose, SS 06

z.B. Apoptotic Pathways: The Roads to Ruin, DR Green, Cell 94 (1998) 695-698

Was sind Caspasen?

Caspasen sind Proteasen, die in ihrem aktiven Zentrum die Aminosäure Cystein enthalten und Proteine nach der Aminosäure Aspartat schneiden (Cysteiny-Aspartasen). Caspasen sind in den meisten Zellen konstitutiv vorhanden.

Die aktivierte Caspase triggert eine zum Tod führende Signalkaskade. Beim Menschen sind bisher 14 verschiedene Caspasen bekannt, die in Signalkaskaden angeordnet sind.

Die Aktivierung (Aggregierung) von Initiatorcaspasen (Caspase 8 und 9) findet in einem Apoptosom statt.

Intrinsischer Pathway: Aktivierung der Initiator-Caspase 9 mittels Apoptosom.

B. Krammer: Apoptose, SS 06

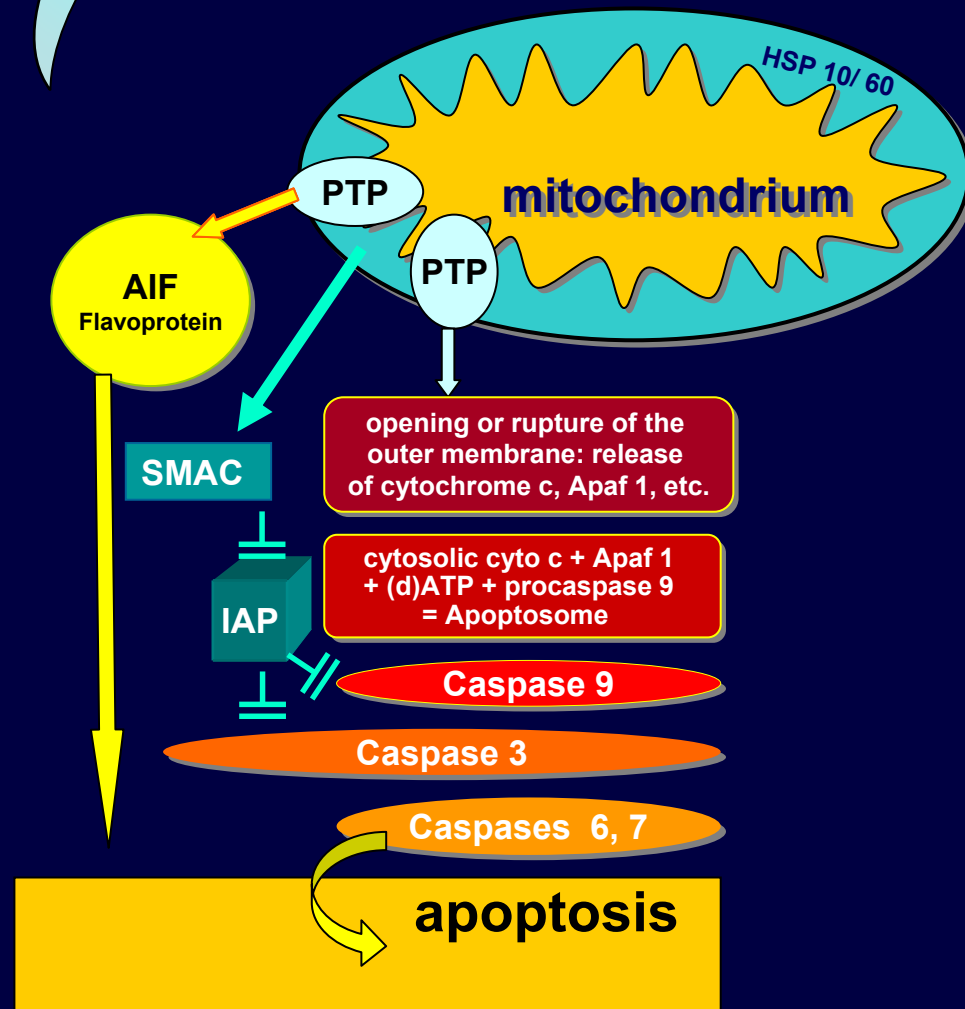
z.B. Apoptotic Pathways: The Roads to Ruin, DR Green, Cell 94 (1998) 695-698

Caspase 9 wiederum aktiviert die „*effector*“ oder „*executioner*“ Caspasen 3, 6, und 7, die schließlich mittels Enzymaktivierung das geordnete Zerlegen der Zellen und den Zelltod bewirken.

Effektor-Caspasen spalten Schlüsselproteine der Zelle, z.B. Kernlamine oder ein Protein, das DNA-Zerschneiden verhindert, oder PARP (Poly ADP-Ribose Polymerase), das die DNA-Strangbrüche repariert (s. Abbildung Kernfragmentierung).

Extrinsischer Pathway: Nach Aktivierung eines membranständigen zellulären „Todesrezeptors“ Aggregierung von z.B. der Initiator-Caspase 8 an Adaptormolekülen = Apoptosom. Dann Aktivierung von Caspase 3 or cross-talk mit tBid und intrinsischer Weg.

weitere interne Apoptose Wege



B. Krammer: Apoptose, SS 06

The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology

Freisetzen von Intermembran-Proteinen ins Cytosol, Fortsetzung:

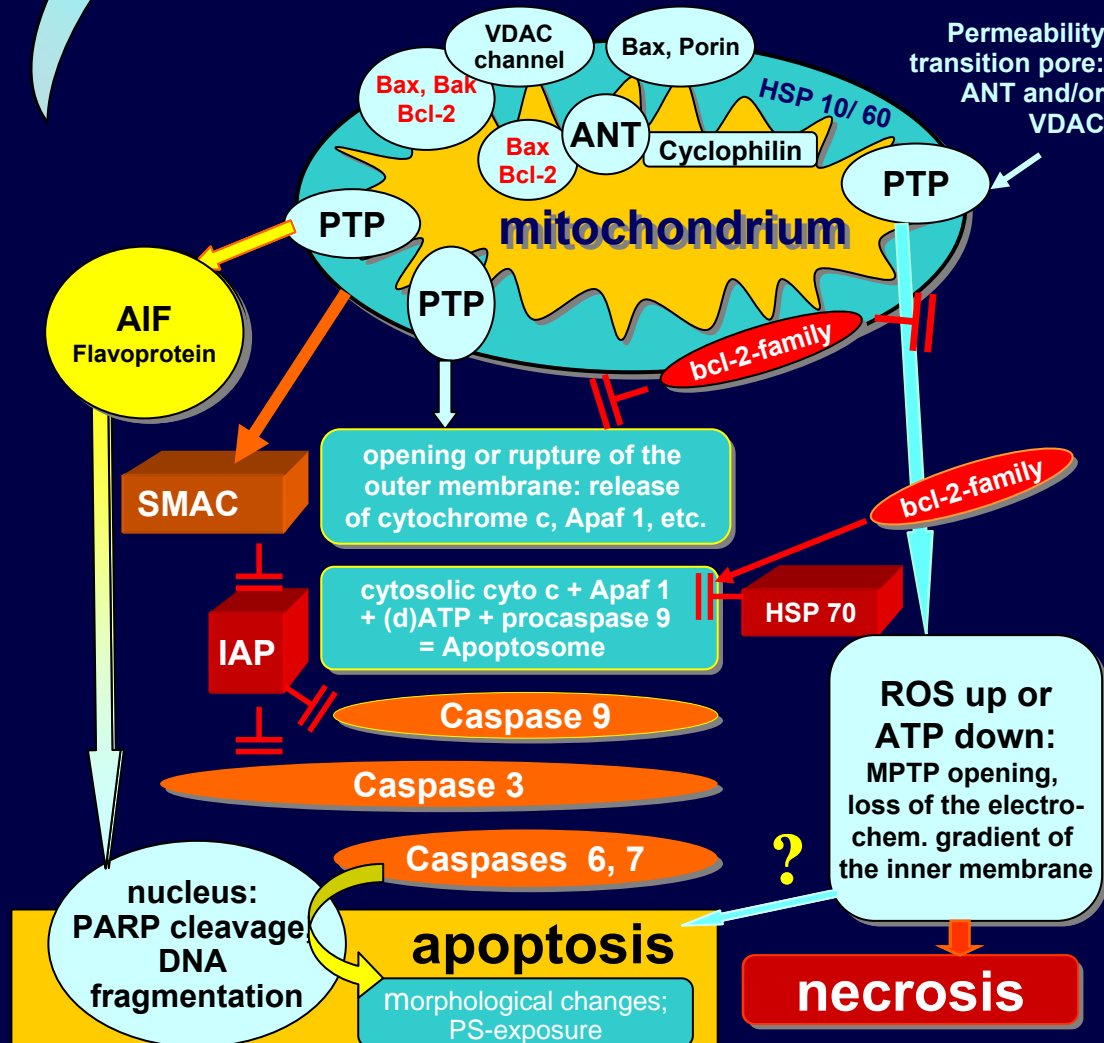
3) **AIF**: „Apoptosis inducing factor“ ist ein Flavoprotein und induziert Apoptose Caspase-unabhängig. AIF aktiviert im Kern Nukleasen, die die Kern-DNA zerlegen.

4) **Smac/DIABLO** = *second mitochondrial apoptosis-activating protein*;

Smac bindet an *inhibitors of apoptosis-activating proteins* (IAPs), welche die Aktivierung von Procaspasen und die Aktivität von Caspase 9, 3 u.a. unterdrücken. Durch Smac-IAP-Komplexe wird die anti-apoptotische Aktivität aufgehoben.

- Durch das Freisetzen dieser Substanzen wird Apoptose ausgelöst.

Apoptose Wege und Auswege



Bcl-2 family:

Anti-apoptotische Faktoren Bcl-2 und Bcl-xL aus der Bcl-2-Familie inhibieren proapoptotische Mitglieder der gleichen Familie wie Bax.

Bcl-2 family ist ein wichtiges Regulativ

Zellen können auch bei zu starken Signalen durch Nekrose sterben, oder in die Nekrose übergehen

B. Krammer: Apoptose, SS 06

The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology

4. Extrinsischer Weg

rezeptorvermittelte Apoptose:

Todesligand (z.B. FasL, TNFalpha) bindet an Todesrezeptor (z.B. Fas bzw. TNFR1); es kommt zu einer Rekrutierung von einem Adaptor-Molekül (z.B. FADD bzw. RAIDD) + Procaspase 8 (bzw. 2) = *Apoptosom*; dadurch wird die Initiatorcaspase 8 aktiviert.

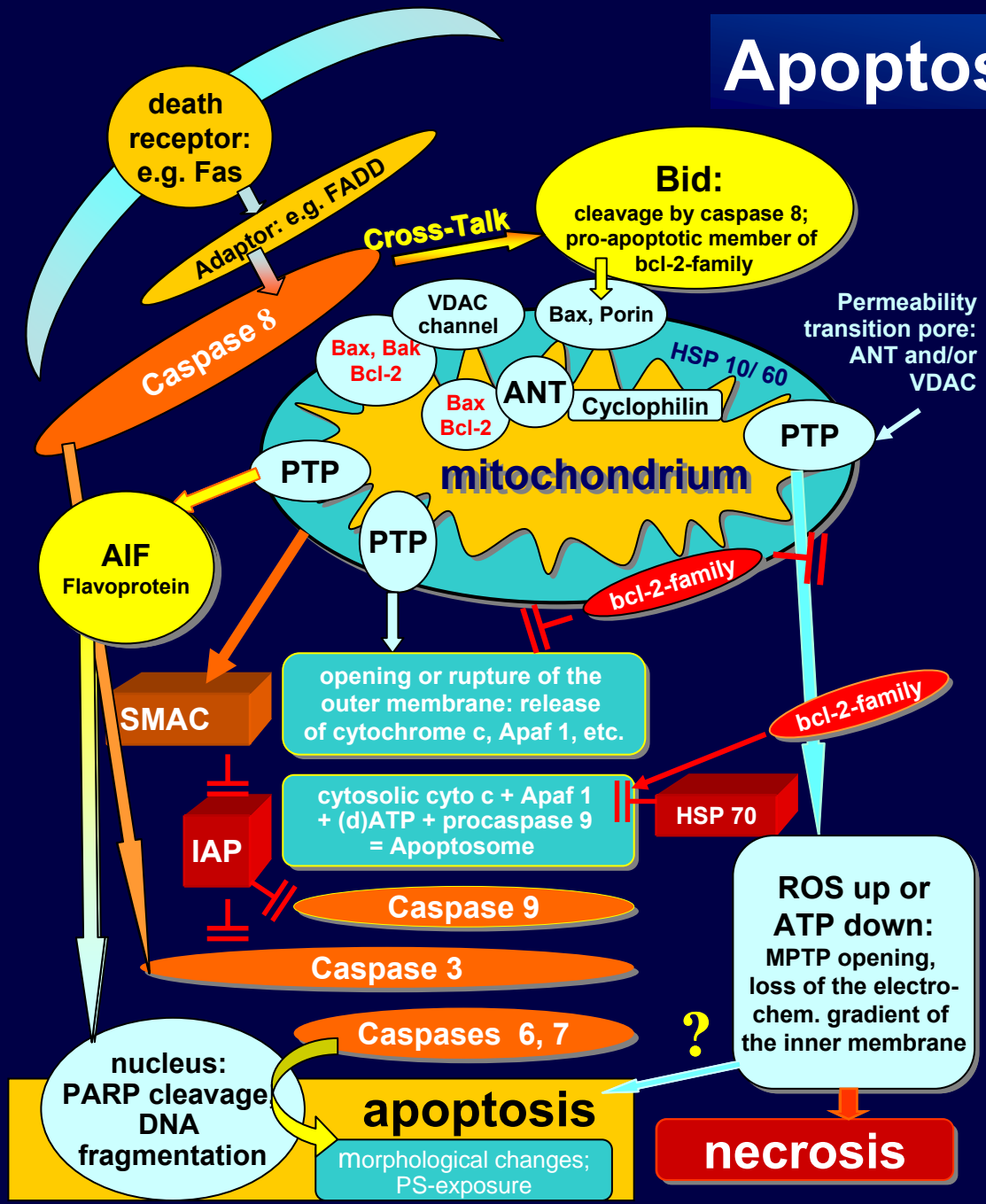
Caspase 8 kann Caspase 3 direkt aktivieren, ohne Einschaltung der Mitochondrien, wenn sehr viel Caspase 8 vorliegt (oder je nach Zelle).

Sonst kommt es zum „Cross-talk“: Bid wird direkt von Caspase 8 gespalten, dadurch wird die Konformation von Bax verändert.

Weiter am intrinsischen Weg nach rezeptorvermittelter Apoptose:

Bax verbindet sich mit VDAC an der äußeren Mitochondrienmembran und bildet einen Protein-durchlässigen Kanal, wobei Cytochrom c und andere pro-apoptotische Proteine ins Cytosol gelangen können (s.o.). Bei diesem Prozeß ist das Öffnen der PTPs (sofern ANT beteiligt ist) usw. nicht notwendig.

Apoptose Wege



B. Krammer: Apoptose, SS 06

The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology

5. Ursachen der Apoptose: allgemein

- ❖ ROS Überproduktion
- ❖ Abbau von Zellen während der Entwicklung des Individuums
- ❖ Abbau von Immunzellen
- ❖ Andere Signale von pathologischen Zellveränderungen, z.B. das Auftreten mitochondrialer proapoptischer Proteine im Cytosol.
- ❖ Auch ein Absinken des ATP-Spiegels ist ein Apoptose-Signal.

6. Apoptose-Induktion durch DNA-Schaden. Rolle des p53

- * p53 („*guardian of the genome*“) registriert DNA-Schaden, stoppt den Zellzyklus und veranlaßt Reparatur; ist das nicht möglich und Schaden erreicht kritischen Wert, leitet p53 Apoptose ein.
- * p53 erkennt verschiedene Arten von DNA Schädigung und kann verschiedene Gruppen von Genen aktivieren. Deren Funktion ist hauptsächlich Zellzyklus-Stopp, DNA-Repair oder Apoptose-Einleitung.
- * Wahrscheinlich Wirkung von p53 auf Apaf-1.