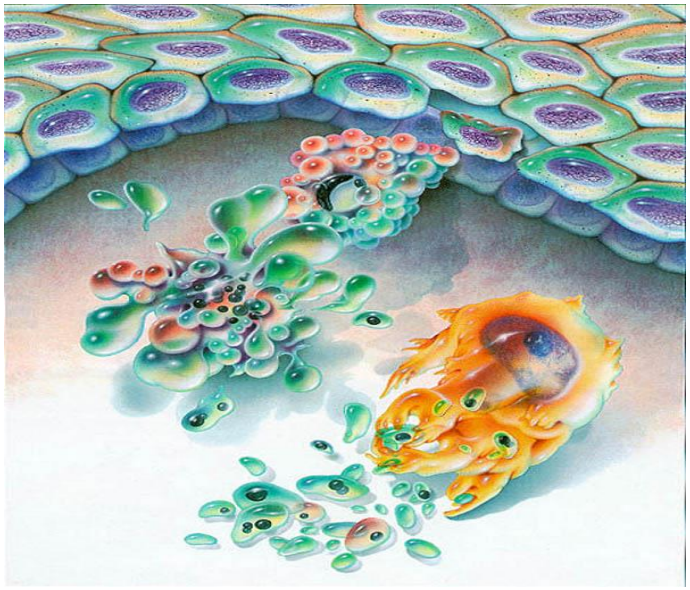
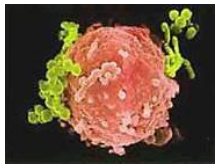
A stresszfolyamatok celluláris vonatkozásai

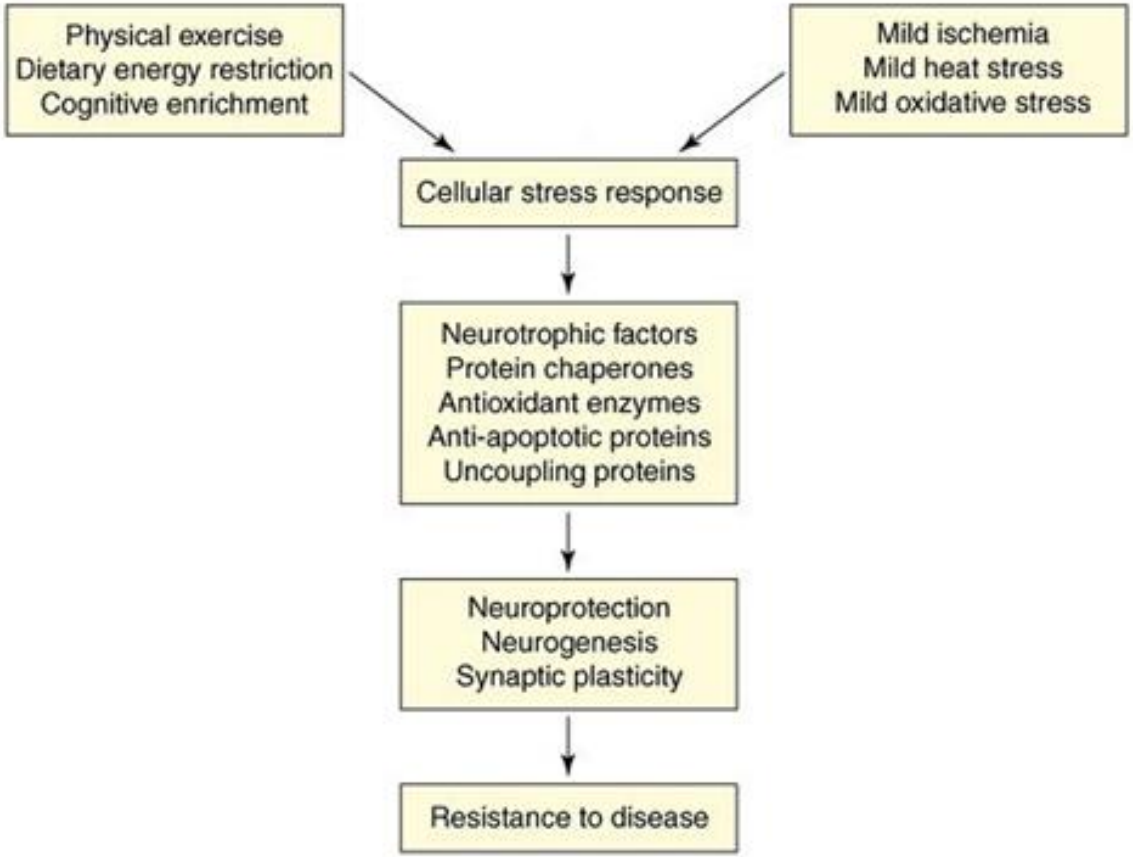


Celluláris stresszfolyamatok

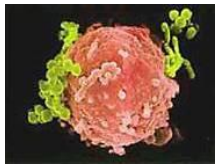


Környezeti stressz – sejtválasz indukció a homeosztázis fenntartására

- Citoplazma komponensek lebontása (pl. autofágiával)
- Sejtszerkezeti változások (sejtes hősokk válasz pl. dajkafehérjékkel konformáció helyreállítás vagy lebontás)



Celluláris stresszfolyamatok



A hősokk választ 1962-ben írták le először Drosophilában (nem csak hő hanem pl. oxidatív stressz és nehézfém terhelés hatására is keletkeznek). 50-200 gént azonosítottak, ami a hősokk után aktiválódhat.

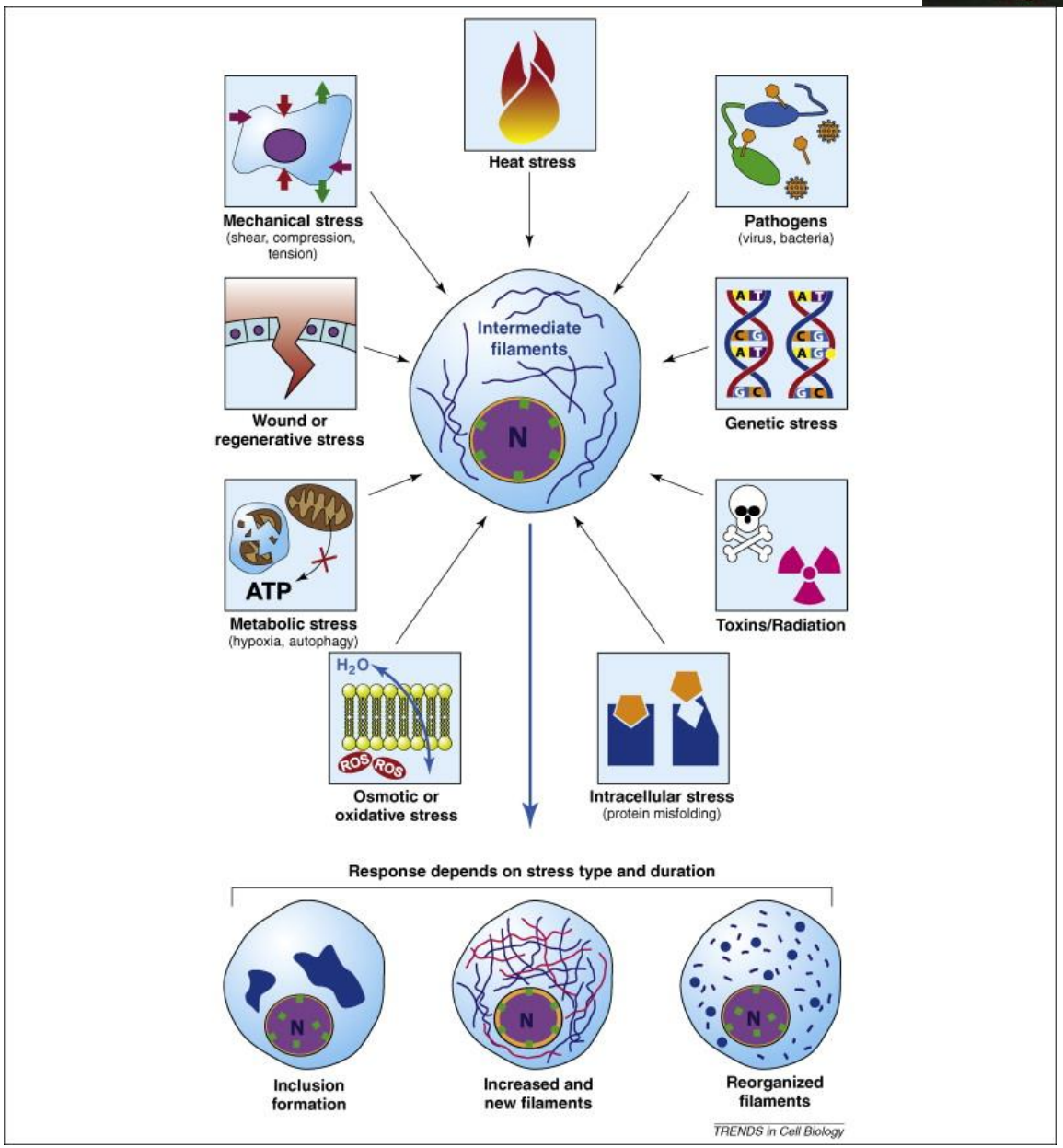
Tágabb értelemben vett hősokk fehérjének nevezzük azokat a fehérjéket, amelyek hő-stressz hatására jelentős mértékben megnövekedik a mennyisége. 7 csoport különíthető el:

1 - klasszikus hősokk fehérjék (molekuláris chaperone-ok)
2 - proteolítikus enzimcsalád
3 - stressz hatására bekövetkező nukleinsav károsodások javításában szerepet játszó enzimeket
4 - anyagcserét befolyásoló enzimek (energiaháztartás stabilizálására)
5 - transzkripciós faktorok és kinázok (esetleg további stressz-válasz útvonal aktiváció)
6 - sejtváz fenntartásához szükséges fehérjék
7 - membránstabilitást és transzportot befolyásoló proteinek

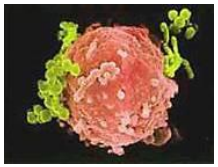
Celluláris stresszfolyamatok

Sejtkárosító faktorok külső vagy belső eredetűek lehetnek

Kémiai anyagok, sugárzás, hőhatás, ozmotikus sokk, nem megfelelő táplálék, oxidatív stressz, fertőzés, sérülés, öregedés.



Celluláris stresszfolyamatok



Xenobiotikumok (nem biológiai eredetű kémiai anyagok) sejtszintű hatása, pl. gyógyszerek,rovarirók, élelmiszer adalékok
Vízoldékonyak kevésbé veszélyesek – kiürülnek
Lipidoldékonyak csak átalakítva tudnak a sejtekből hatékonyan eliminálódni

A sejtek védekező mechanizmusait aktiválhatják,
Citokóm P450 (CYP) enzimek segítségével alakulnak át, elsősorban a májban. Közel 500 gént azonosítottak, ami ilyen enzimeket határoz meg (genetikai polimorfizmus).

apoláros szubsztrát+O_2+NADPH+H^+ $\Rightarrow$ poláros szubsztrát-OH+$NADP^+$+H_2O

Toxikus termékek is képződhetnek:
pl.- epoxidok (karcinogének lehetnek)

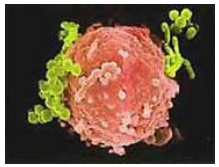
Szabad gyökök: páratlan elektronnal rendelkező instabil atomok vagy atomcsoportok. Hasznosíthatók, de károsak is lehetnek

$O_2 \Rightarrow$ szuperoxid ($O_2^{\bullet}$) $\Rightarrow H_2O_2 \Rightarrow OH^{\bullet} \Rightarrow H_2O$

Káros hatás: lipidperoxidáció (membránkárosodás)
citotoxikus hatás

Védekezés: antioxidánsokkal (pl. szuperoxid dizmutáz, C vitamin, E vitamin)

Celluláris stresszfolyamatok



Érintett sejtkomponensek:

Lizoszóma: savas hidrolázokat tartalmaznak
(pH5 a belsejükben, protonpumpa tartja fenn)
primer lizoszóma ⇒ heterofágia, fagolizoszóma
⇒ autofágia, autofagoszóma
(tárolási betegségek, hidrolázhiány)

Peroxiszóma: hidrogénperoxidot termelő és lebontó sejtorganellum
(eredete a mitokondriuméhoz hasonló)
katalázokat tartalmaz ⇒ toxikus anyagokat tudnak semlegesíteni

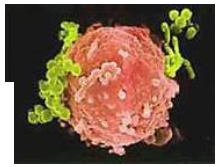
Mitokondrium: a citrátciklus és oxidatív foszforilálás helye
⇒ fő energiatermelő sejtkomponens, szabad gyökök keletkezhetnek,
a mitokondriális DNS „elromlik”

Endoplazmatikus retikulum: a fehérjeszintézis helye, a szerkezetet befolyásolják a toxikus hatások

Golgi apparátus: a fehérjék érési folyamatának helye

Sejtmag: az örökítő anyag helye, szabályozó folyamatok szerveződése

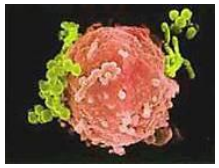
Celluláris stresszfolyamatok



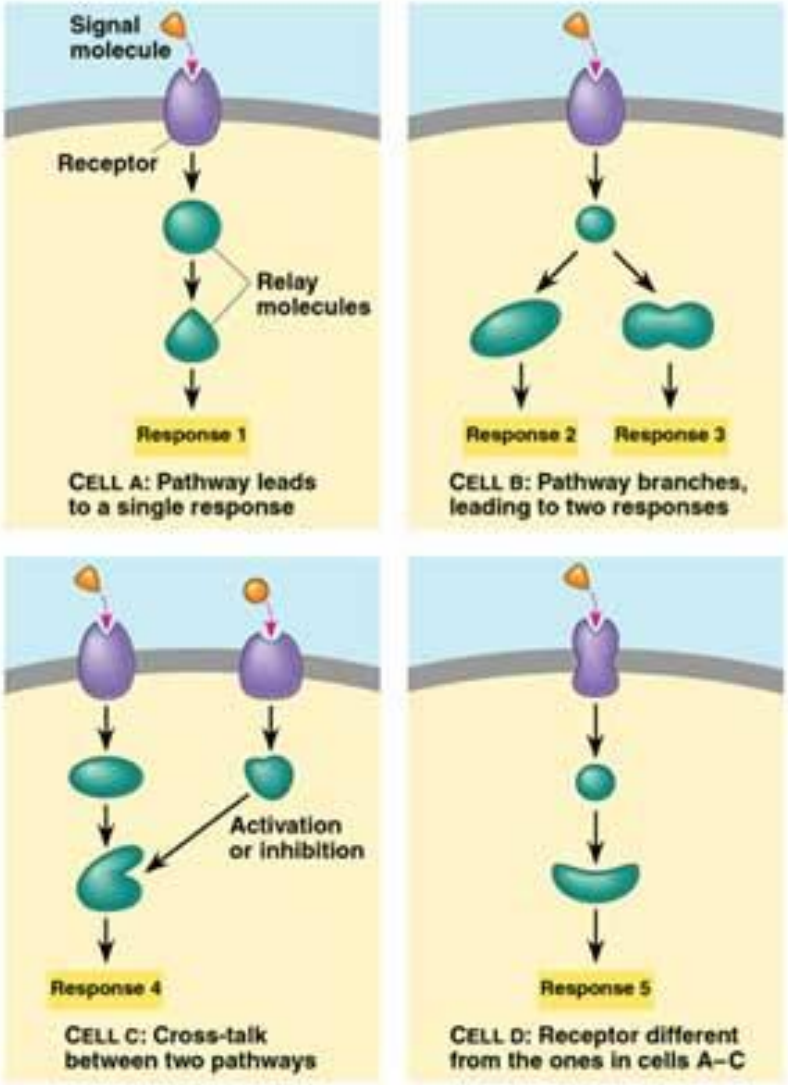
Érintett sejtkomponensek:

Auto-phagosome
Lysosome
Degradation of cytoplasmic material
Autolysosome
STRESS
Macroautophagy
CMA
AGEING
CMA substrate
Chaperones
LAMP-2A
ER
STRESS
PERK
UPR^ER
eIF2α
BiP
GRP94
XBP-1
DAF-16
CHOP
Intact proteins
Damaged proteins
Heat shock response
Activated HSF1
HSPs
Monomeric HSF1
Activation
DAF-16
CHOP/ DVE-1
HSP-6 HSP-60 HSP-10
Nucleus
BER
NER
NHEJ
HR
Ku
Oxidized proteins
Golgi stress response?
Golgi
UPR^mt
Mitochondrion
Cytoplasm
Cell membrane
Insulin/IGF-1 receptor
Nutrient limitation
P

Celluláris stresszfolyamatok

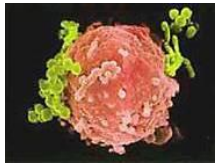


A receptorok aktiválódásának következménye konvergencia, divergencia



Különböző típusú receptorok lehetnek a membránokban, amik a jeleket felfogják, közvetítik a hatást

Celluláris stresszfolyamatok



Sejten belüli jelátviteli útvonalak:

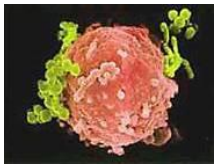
- sejtfelszíni metabotrop, G–fehérje kapcsolt receptoraktiváció utján
  (cAMP, IP_3, Ca^{2+})
  PKA aktiváció – a katalitikus alegység (C) a magba transzlokálódik, ott transzkripciós faktorokat foszforilál, pl.CREB (génexpresszió megindítása)

  CAMkináz – itt is lehet a végső hatás CREB aktiváció (CREB – cAMP responsive element)
  PKC – AP1 transzkripciós faktor aktiváció (AP1- fos és jun fehérje dimer)

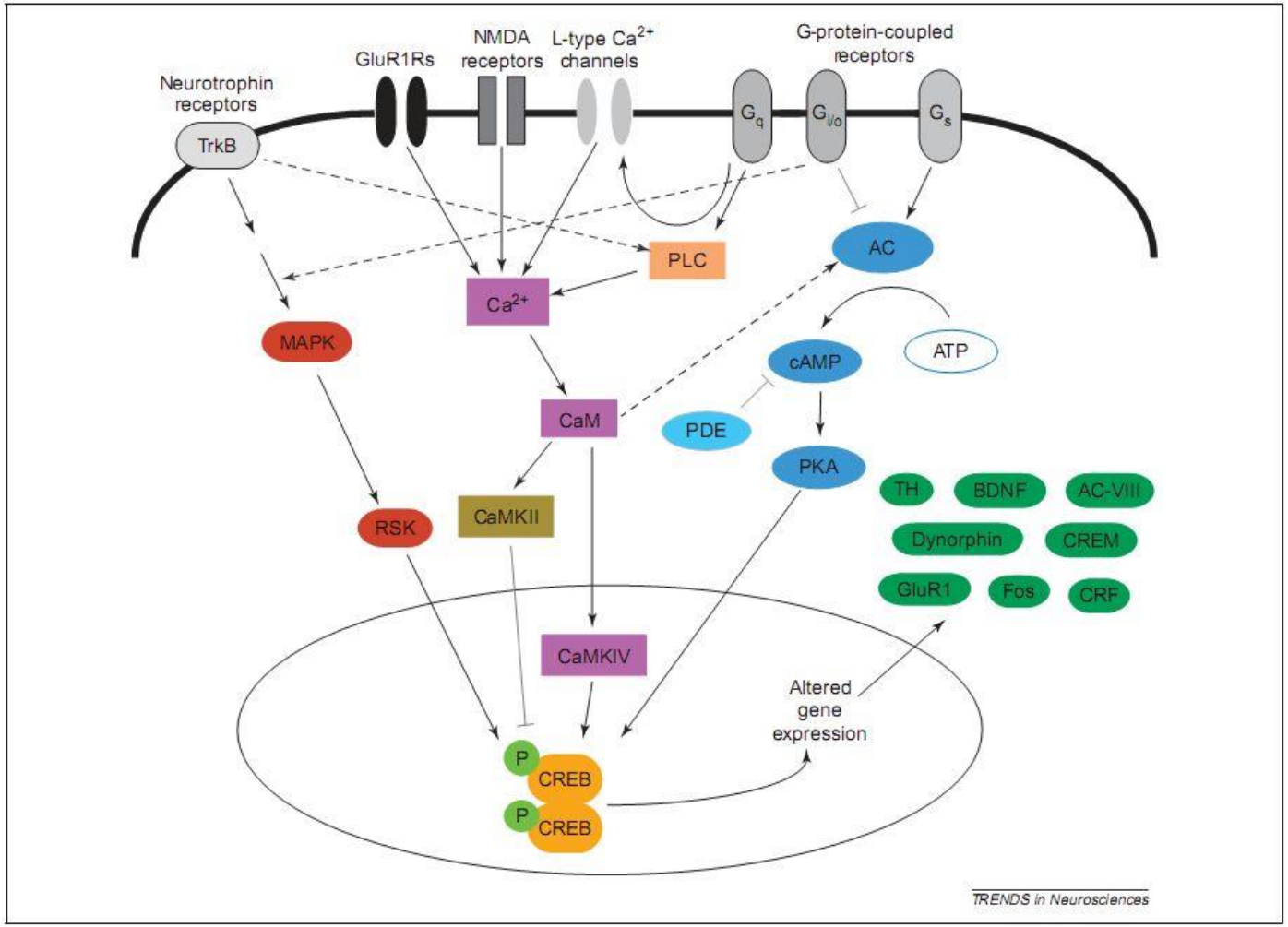
- növekedési faktor receptor aktivációval
  (PDGF – trombocita eredetű n.f., EGF –epidermális n.f.
  FGF – fibroblaszt n.f., NGF – idegsejt n.f., IGF –inzulin n.f.)

  Receptor tirozin kinázok, Src-homológ (SH) fehérjéket aktiválnak ⇒
  Ras- ⇒ Raf- ⇒ MEk ⇒ ERK aktiváció MAP-kinázok által.
  ERK magba is bejut. (ERK: extracellular-signal-regulated kinase)

Celluláris stresszfolyamatok

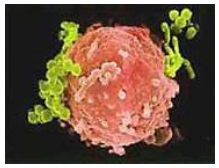


Sejten belüli legfontosabbjelátviteli útvonalak:



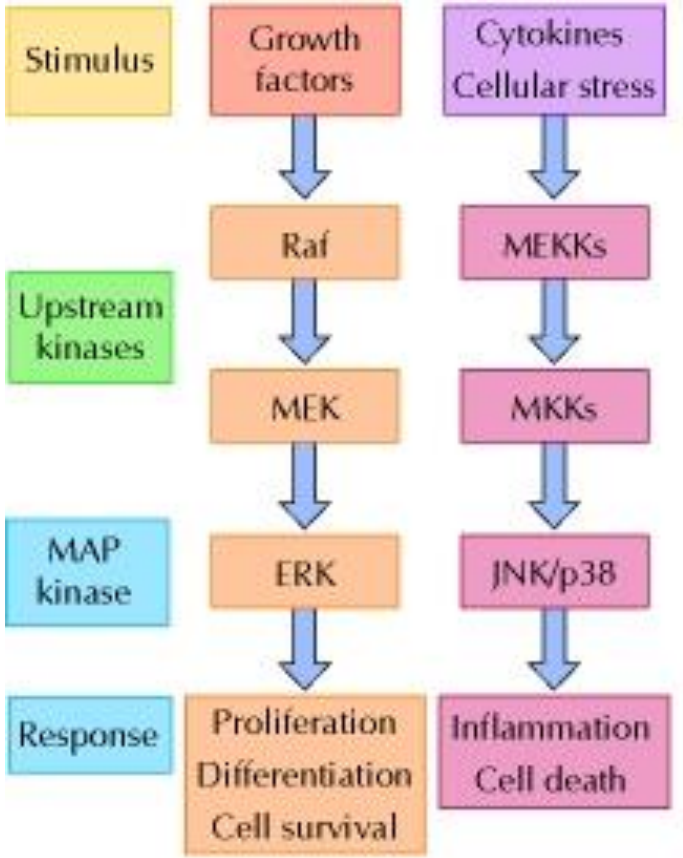
cAMP-response-element-binding protein (CREB) fontos génregulációs faktor. A működést befolyásoló esetleges útvonalak.

Celluláris stresszfolyamatok

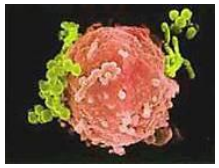


Sejten belüli gyakori jelátviteli útvonalak:

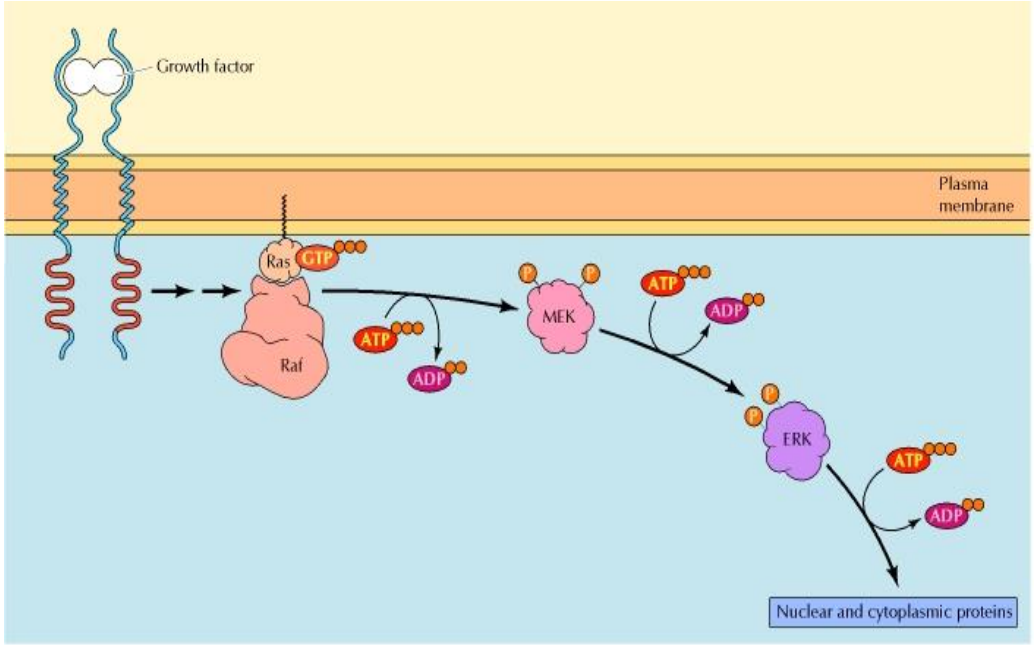
-stresszhatások jelátvitele, stresszválasz
Túlélési, regenerációs folyamatok beindulása vagy sejthalál kialakulása.

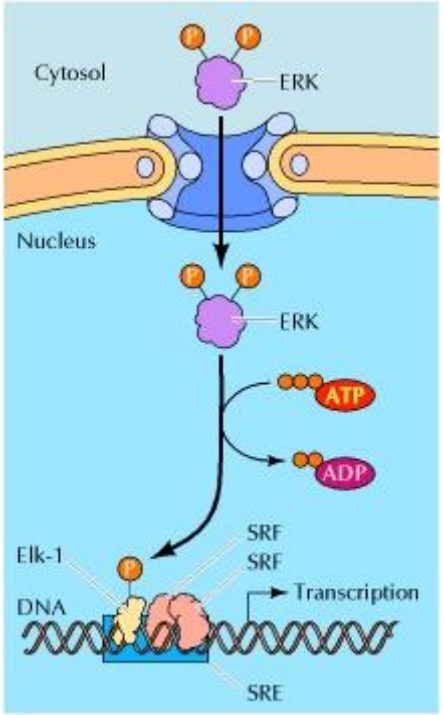


Celluláris stresszfolyamatok



MAP kinaz (Ras, Raf) útvonal

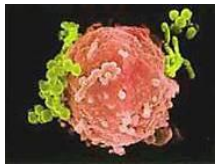




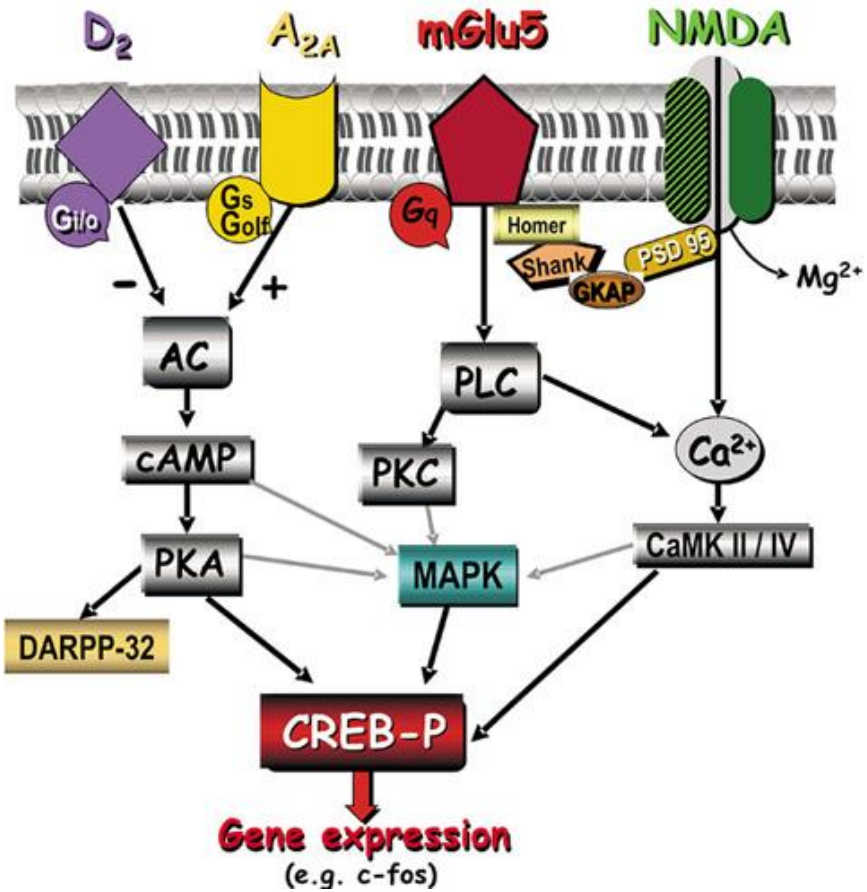
MAP: *m*itogen-*a*ctivated *p*rotein kinases
ERK: *e*xtracellular signal-*r*egulated *k*inase
SRE: serum response element
SRF: serum response factor
MEK: *M*AP kinase/*E*RK *k*inase.
Ras: small GTP-binding proteins
Raf: proto-oncogene serine/threonine-protein kinase

Azonnali, korai gén-aktiváció: c-fos, c-jun

Celluláris stresszfolyamatok

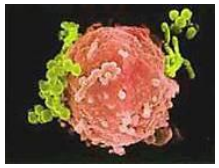


Gyorsan aktiválódó gének átírása - IEGE



CREB (cAMP response element-binding) egy transzkripciós faktor, amely képes a DNS-hez kötődni, és a gén átírást szabályozni.

Celluláris stresszfolyamatok



A sejteket érő stressz hatására kialakuló válasz függ a környezettől is

- DNS roncsolásos válaszok pl. sugárzás, kemikáliák, ozmotikus stressz

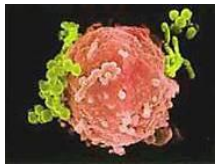
- Oxidativ stressz hatás - szabadgyökök képződésének hatása, pl. ischemia utáni reperfúzió

- Hősokk-fehérjék megjelenése: HSP-fehérjék- több féle van, állandóan jelen lévők (pl. HSP 90) szabályozhatók (HSP 27 pl. foszforilációval), indukálhatók (pl. HSP 70)

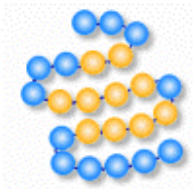
- Unfolded fehérje reakció (UPR-unfolded protein response) ER stressz

- A sejtek lehetséges regenerációs folyamatainak beindulása – hősokk-fehérje termelés vagy ún. unfolded protein válasz. Ebben a chaperone fehérjék aktivitásának/kapacitásának is nagy szerepük van.

Celluláris stresszfolyamatok

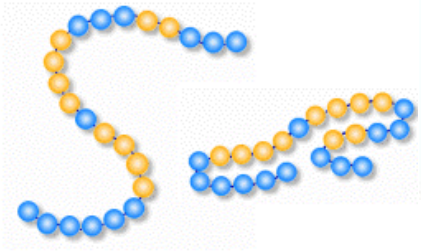


Hősokk-fehérjék szerepe



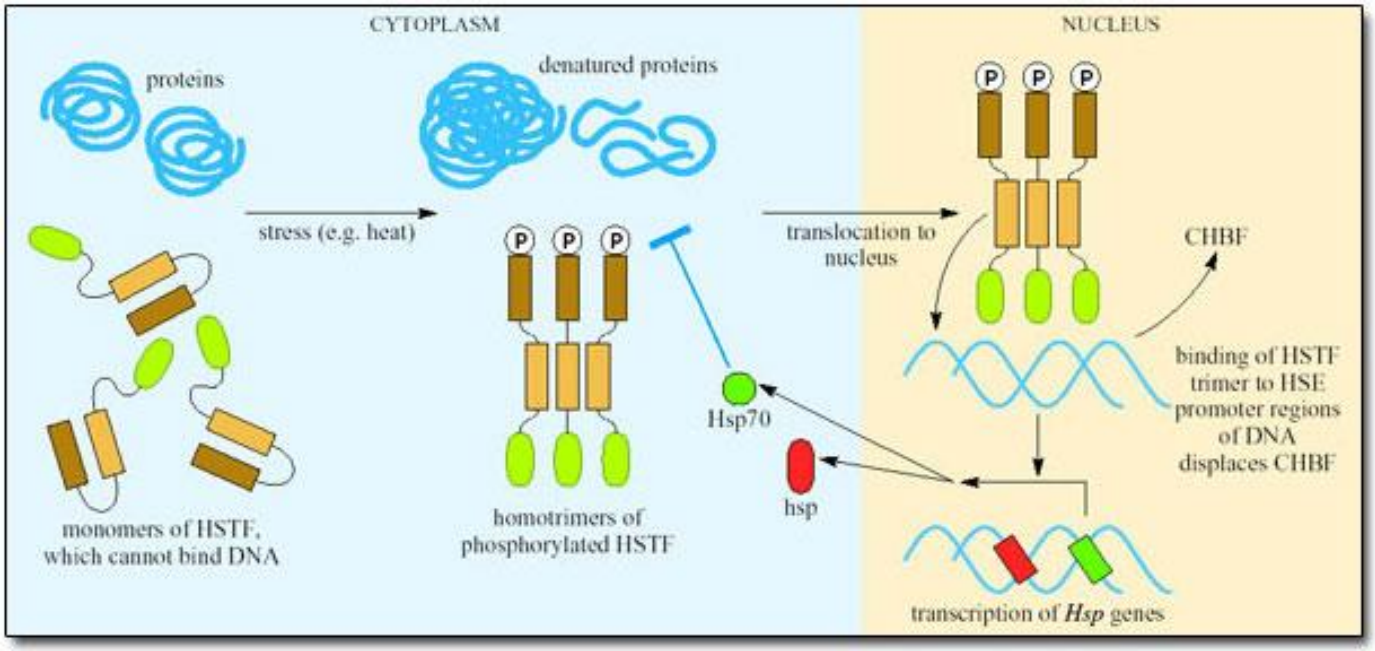
Globular soluble protein

Stable and soluble
Protease resistant
No chaperone binding
Functional



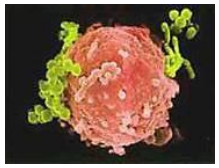
Unfolded or misfolded proteins

Aggregation-prone
Protease-sensitive
Bind chaperones
Non functional

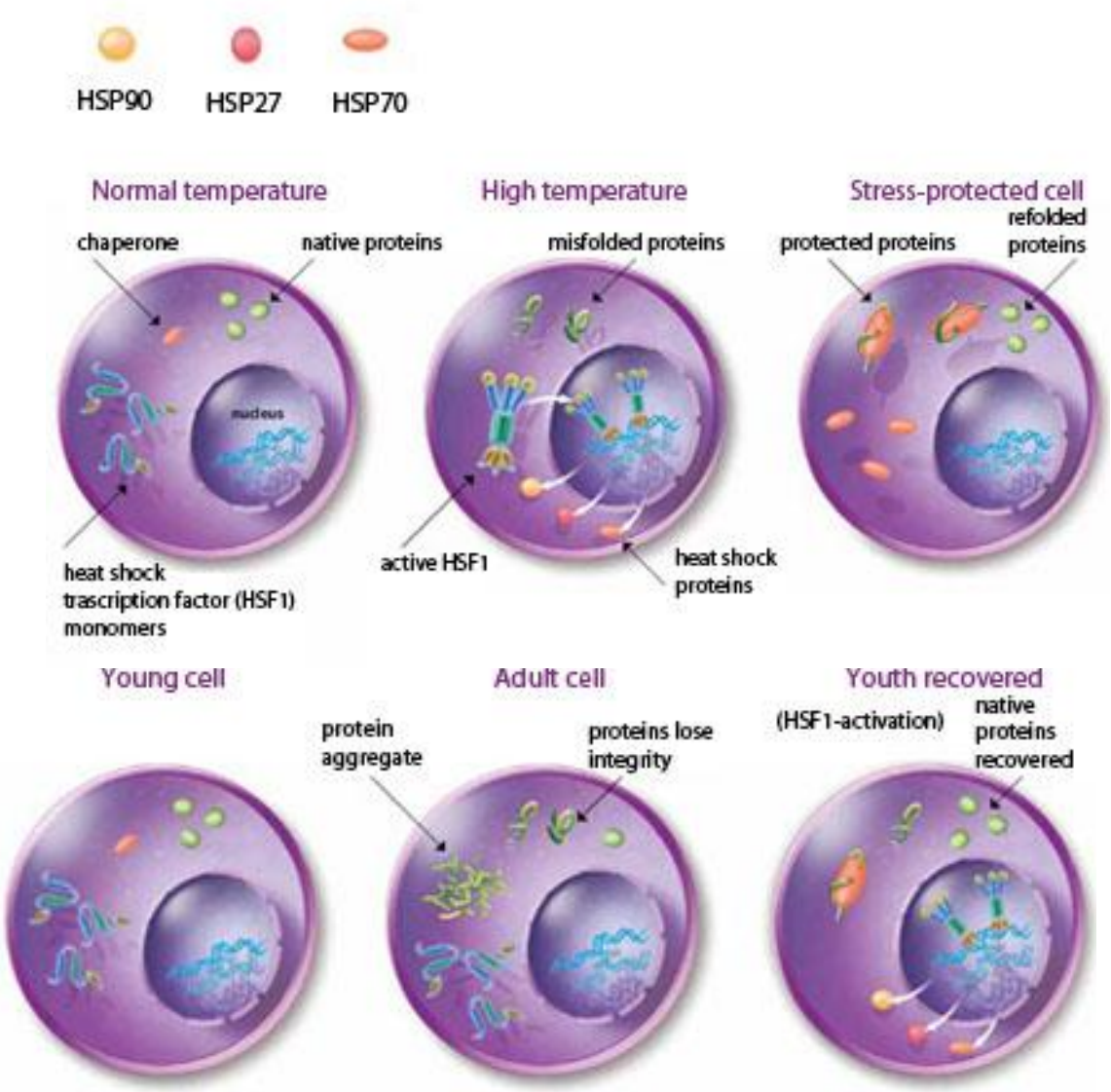


HSTF- heat shock transcription factor 1 vagy HSF1 - heat shock factor 1: a hősokkfehérjék aktiválásának kiváltója.

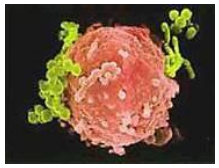
Celluláris stresszfolyamatok



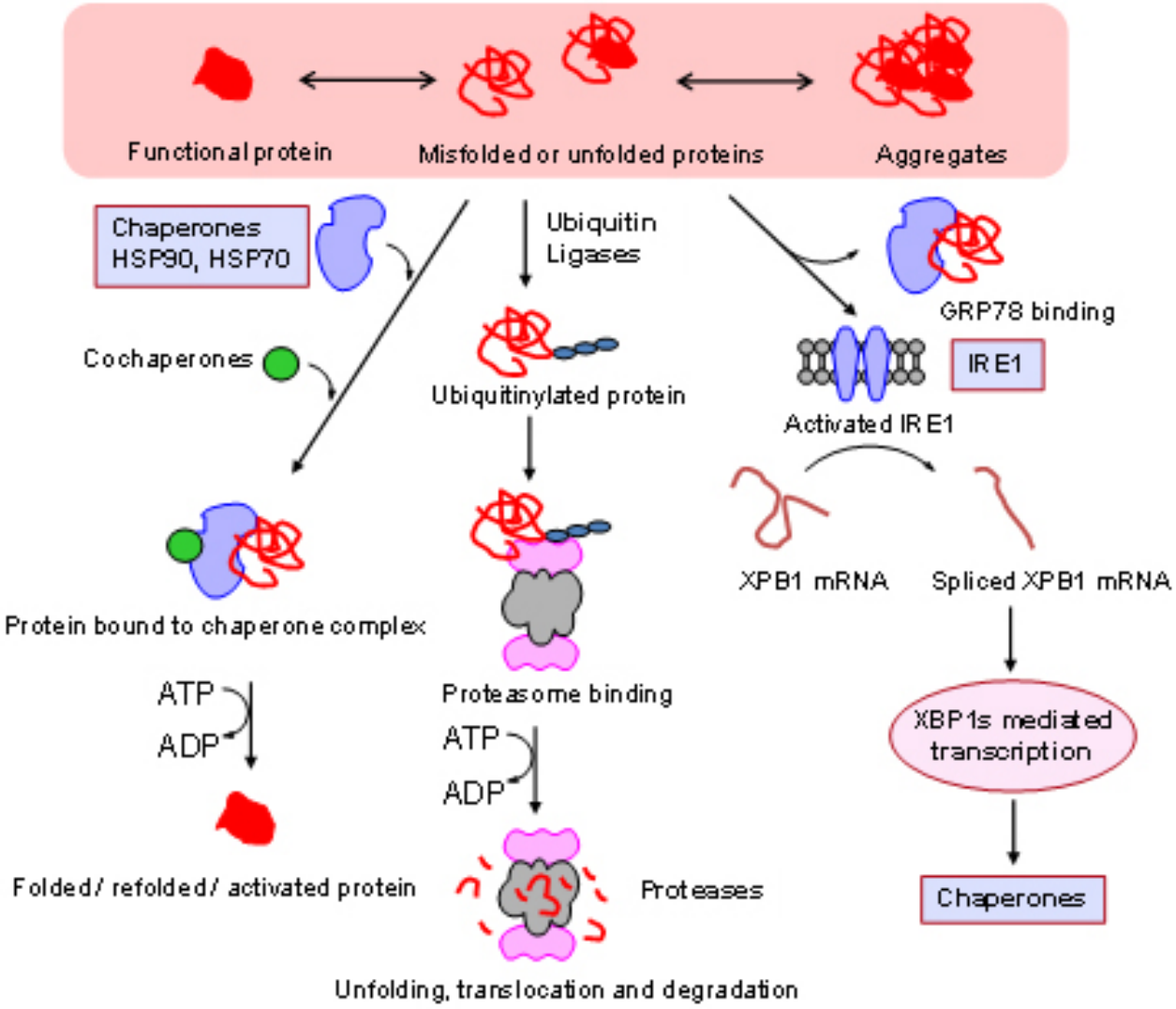
Hősokk-fehérjék szerepe



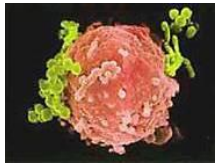
Celluláris stresszfolyamatok



Hősokk-fehérjék szerepe



Celluláris stresszfolyamatok



Endoplazmatikus retikulum stressz

ER többféle funkcióval rendelkezik legfontosabbak:

Ca^{2+} raktár és

fehérje raktár – másodlagos átalakulások (diszulfid híd képzés, glikoziláció)

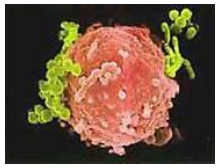
A sejt redox regulációja sérül: a fehérjék képződése nem megfelelő (unfolding, missfolding)

ER stressz: pl. vírusfertőzés hatására

ER stressz adaptáció:

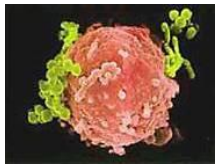
javító mechanizmusok beindulnak a citoplazmában (kináz aktivációval)

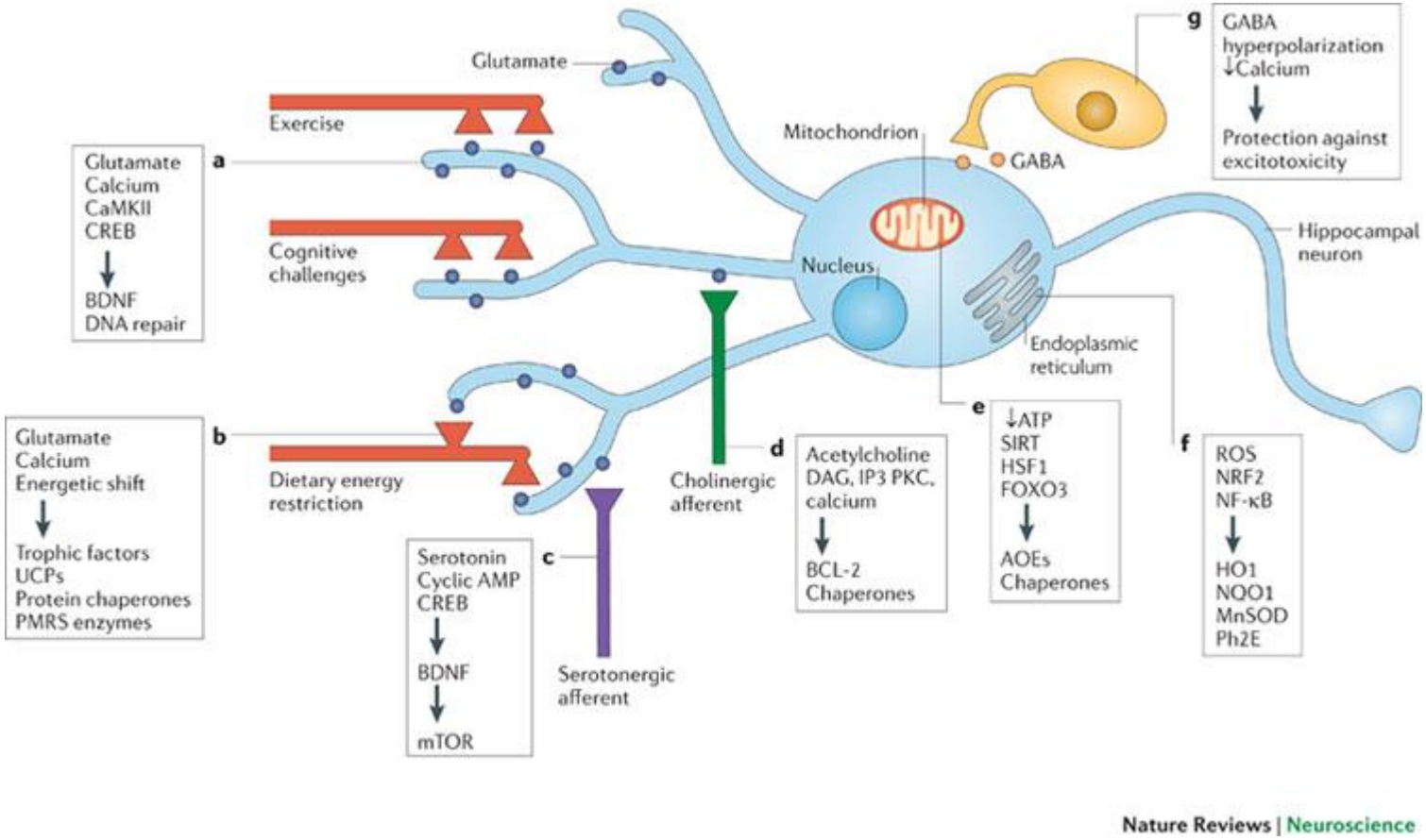
Celluláris stresszfolyamatok



Unstressed ER
Proper folding
SEC61
Ribosome and mRNA (active translation)
Stressed ER
SEC61
Cytosol
Translational attenuation
Golgi Complex
RIP
XBP1 mRNA
splicing
XBP1s mRNA
EIF2α
ATF6 (p50)
XBPIs
ATF4 mRNA
ATF4
Nucleus
UPR and ERAD components, ER chaperones, AA metabolism, membrane biogenesis, secretory machinery, lipid biosynthesis,oxidative stress response etc
BIP associated with ATF6
BIP associated with IRE1α
BIP associated with PERK
Activated IRE1α: dimerized
Activated PERK: dimerized
Activated ATF6
BIP associated with unfolded protein
Phosphate

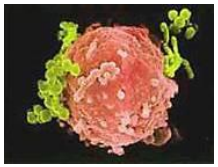
Celluláris stresszfolyamatok





http://www.nature.com/nrn/journal/v13/n3/fig_tab/nrn3151_F2.html

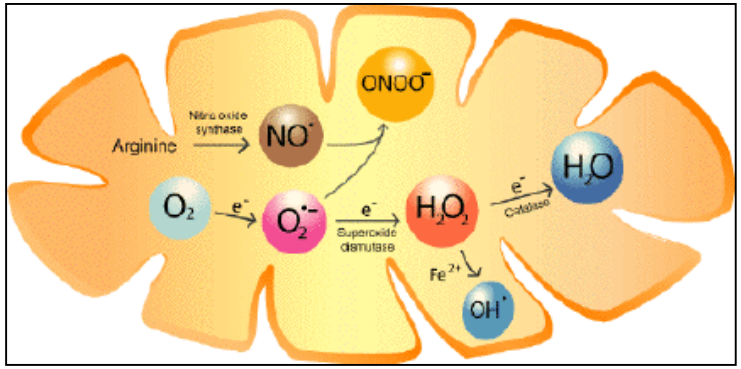
Celluláris stresszfolyamatok



Oxidatív stressz – mitokondriumok szerepe

Reaktív oxigén termékek (ROS)

A mitokondrium a reaktív szabad gyökök képződésének fő helye

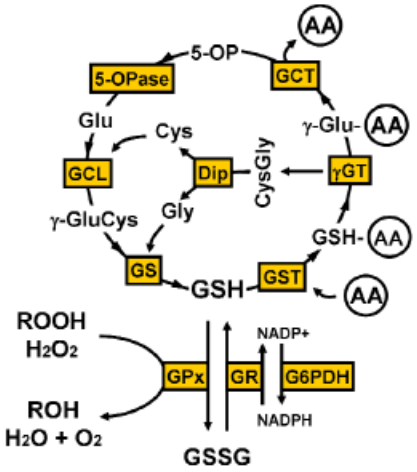


Fiziológiás és patológiás körülmények közt keletkeznek:

- H_2O_2,
- superoxid anion
- NO

Exogén hatásra is keletkeznek:

- drogok hatására
- szennyezők (ózon, rotenon)
- gomba- vagy baktérium toxinok
- cigaretta
- ionizáló sugárzások



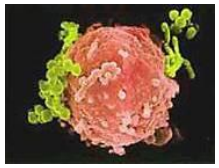
Következmény:

DNS roncsolódás
Fehérje sérülés
sejt degeneráció

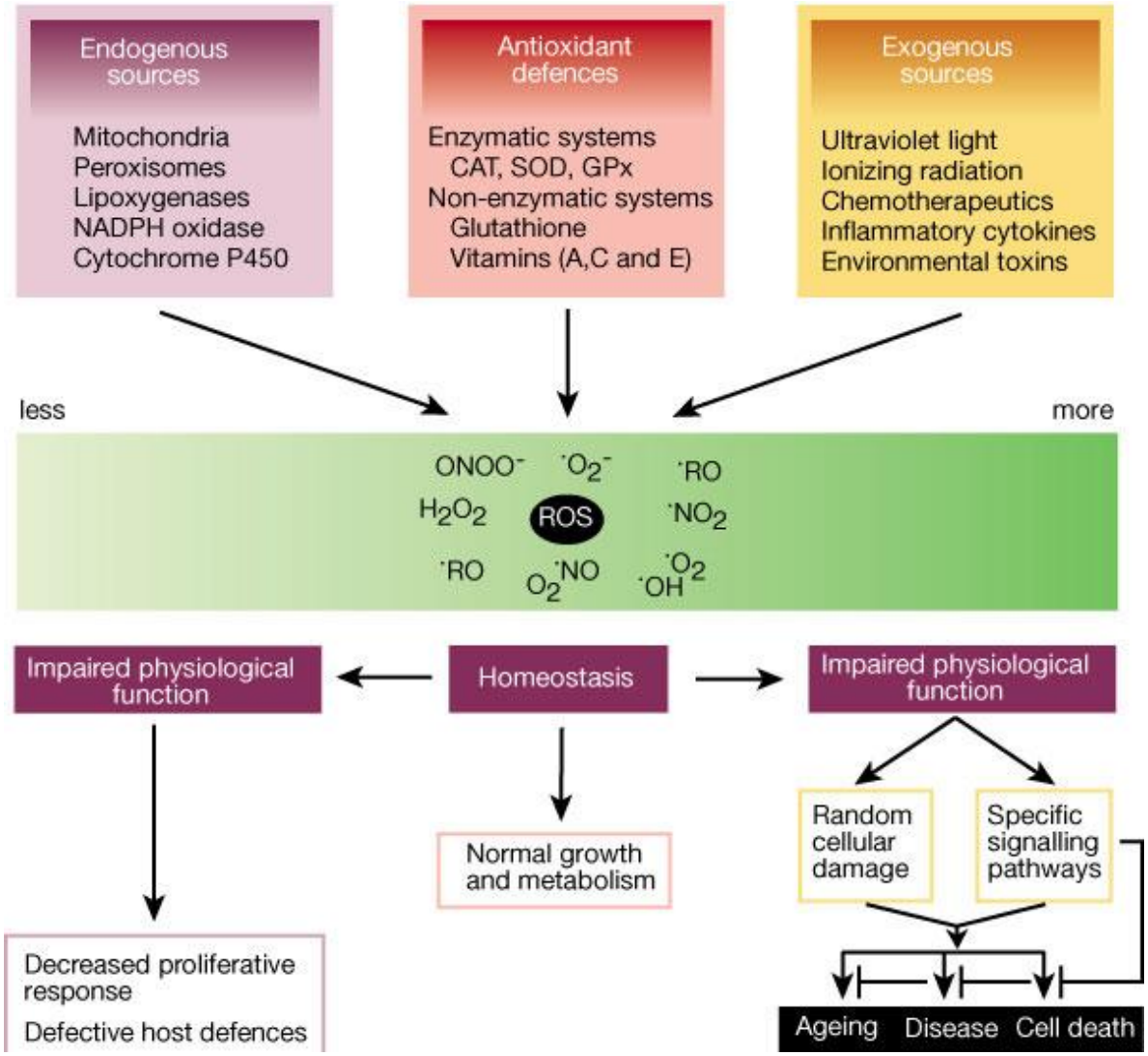
Védekezés enzimatikus és nem-enzimatikus antioxidánsokkal:

- superoxid dizmutáz
- kataláz
- glutation peroxidáz
- E, A, C vitamin
- glutation (GSH - 3 aminosav alkotja —glutaminsav, cisztein és glicine)

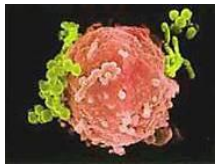
Celluláris stresszfolyamatok



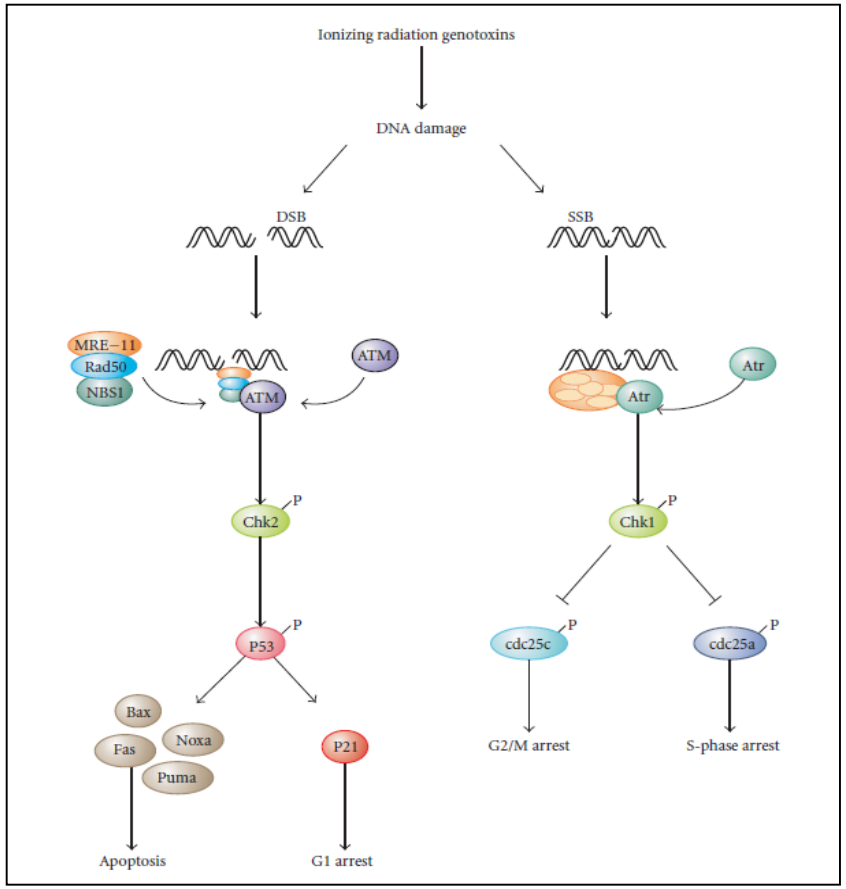
Reaktív oxigéngyökök képződéséhez vezető különböző és védő útvonalak



Celluláris stresszfolyamatok

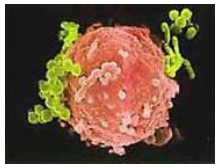


Sugárzások és kémiai anyagok lehetséges hatása.

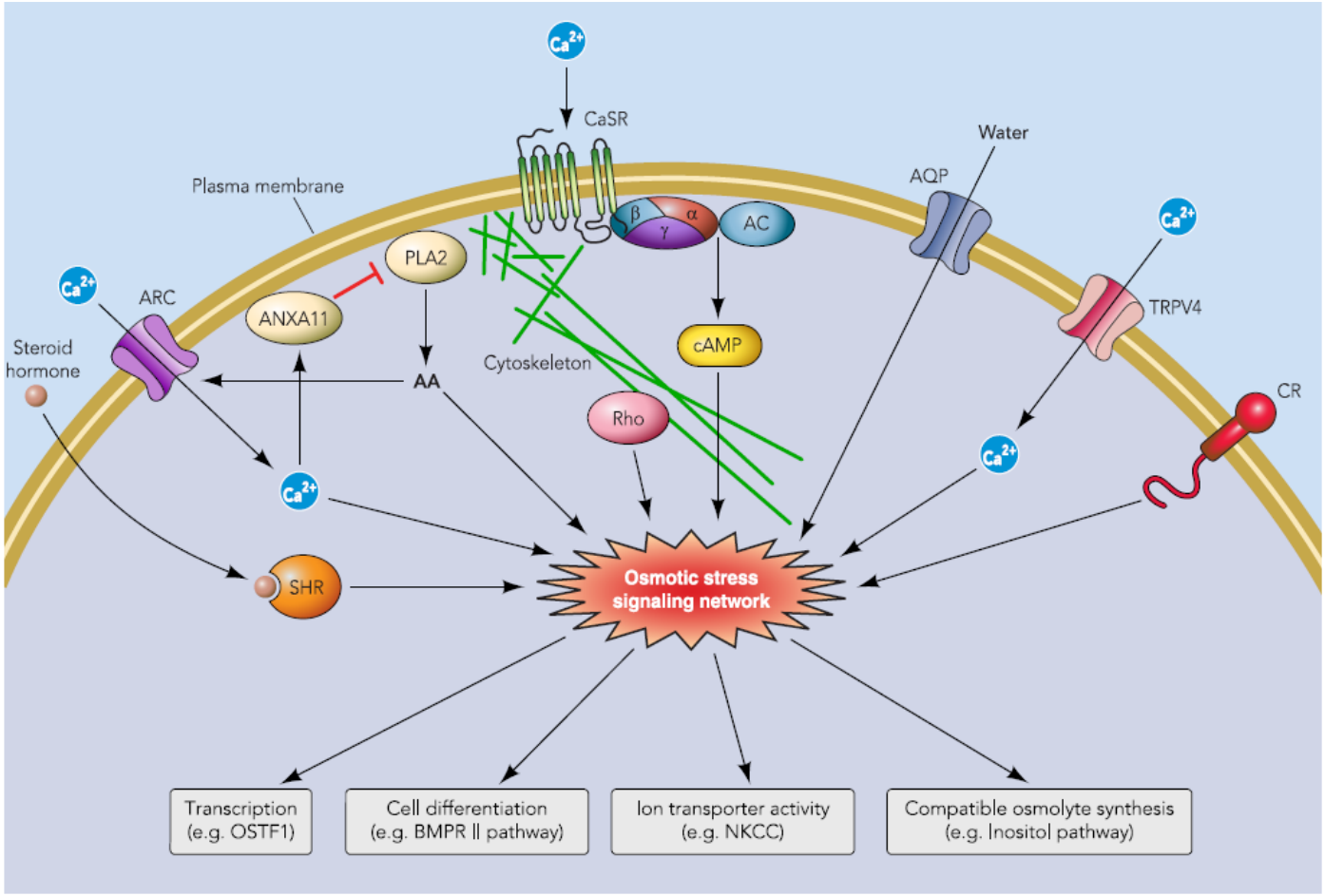


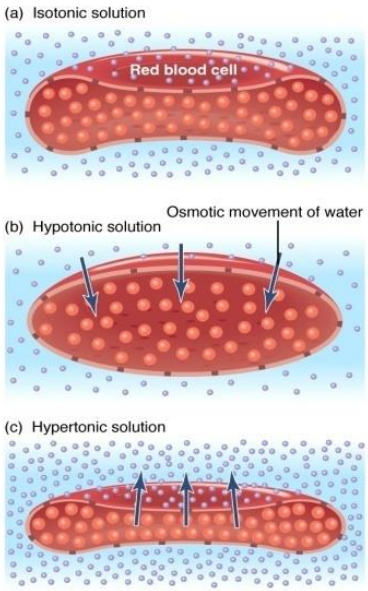
DNS roncsoló stressz reakció-útvonalak, sejtpusztuláshoz vezetnek.

Celluláris stresszfolyamatok



Ozmotikus stressz

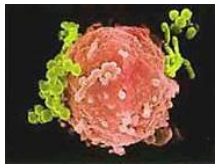




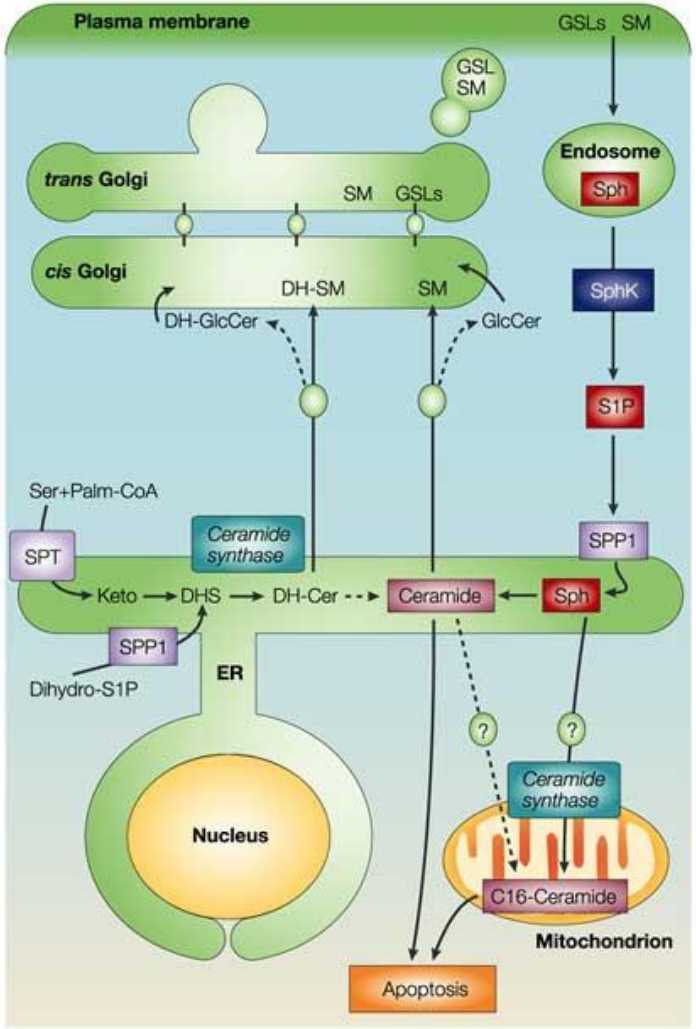
Víz megy be a sejtbe, DNS és fehérje roncsolódáshoz vezet, hiperozmotikus stress.

Ion és vízháztartás szabályozása nagyon fontos az integritás megőrzése szempontjából!

Celluláris stresszfolyamatok

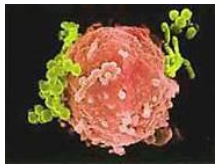


Membrán szintézis problémák:



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Celluláris stresszfolyamatok



Ha javító folyamatok nem vezetnek eredményre – sejtpusztulás történik

- Sejthalál kialakulásához vezető folyamatok - apoptozis, nekrózis, autofágia

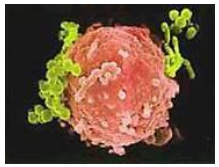
apoptózis: kaszpáz- vagy kalpain-függő, programozott sejthalál, patológiás típusú

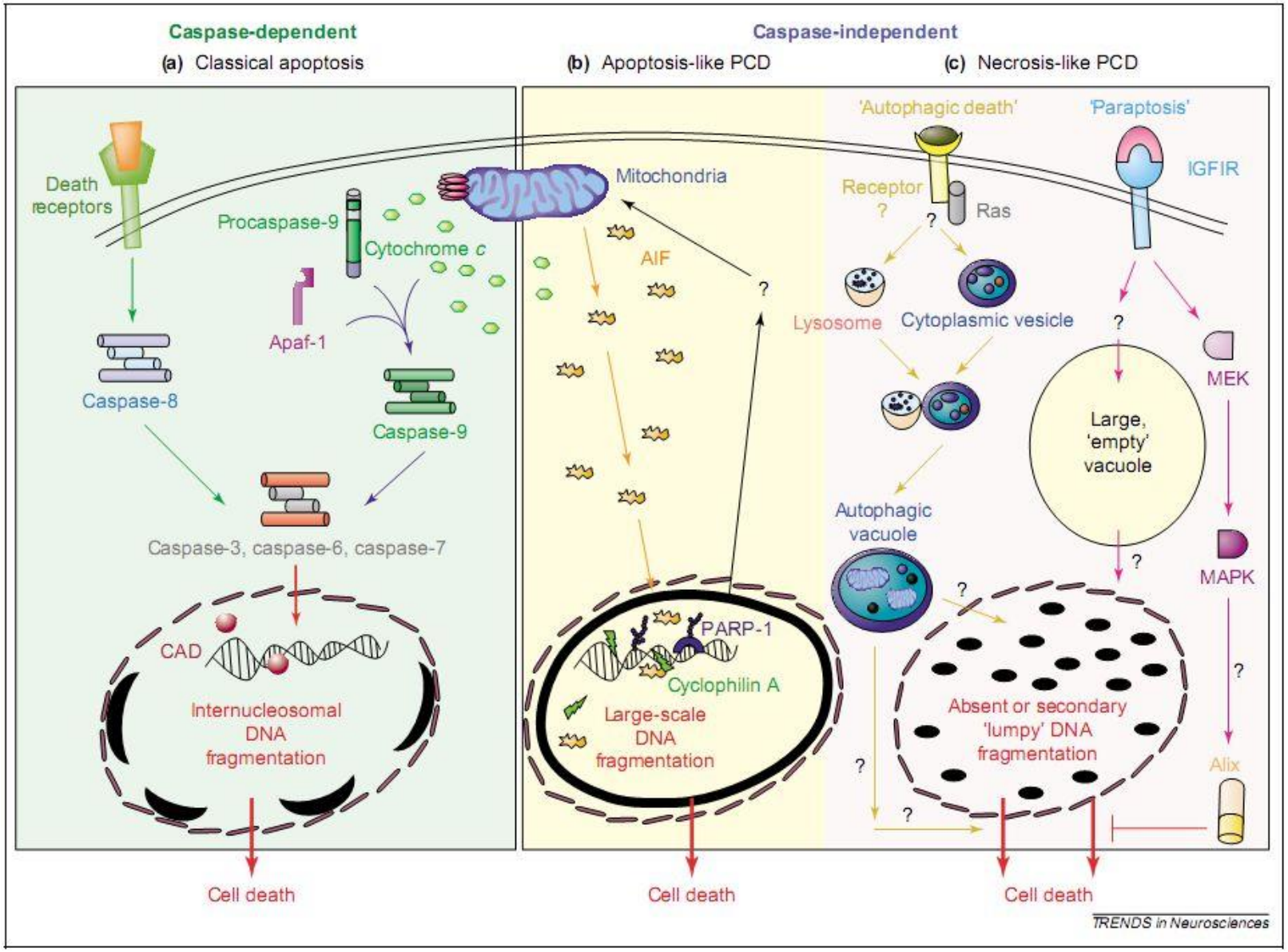
autofágia: vezikuláris folyamatok játszódnak lassan le, nem kielégítő indukció állhat a háttérben

nekrózis: „baleseti" sejthalálnak gondolták, sejt-duzzadás jellemzi (ischémia, glutaminsav toxicitás)

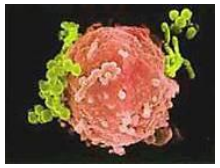
Kialakuló betegségek: rák, neurodegenerativ betegségek, infarktus

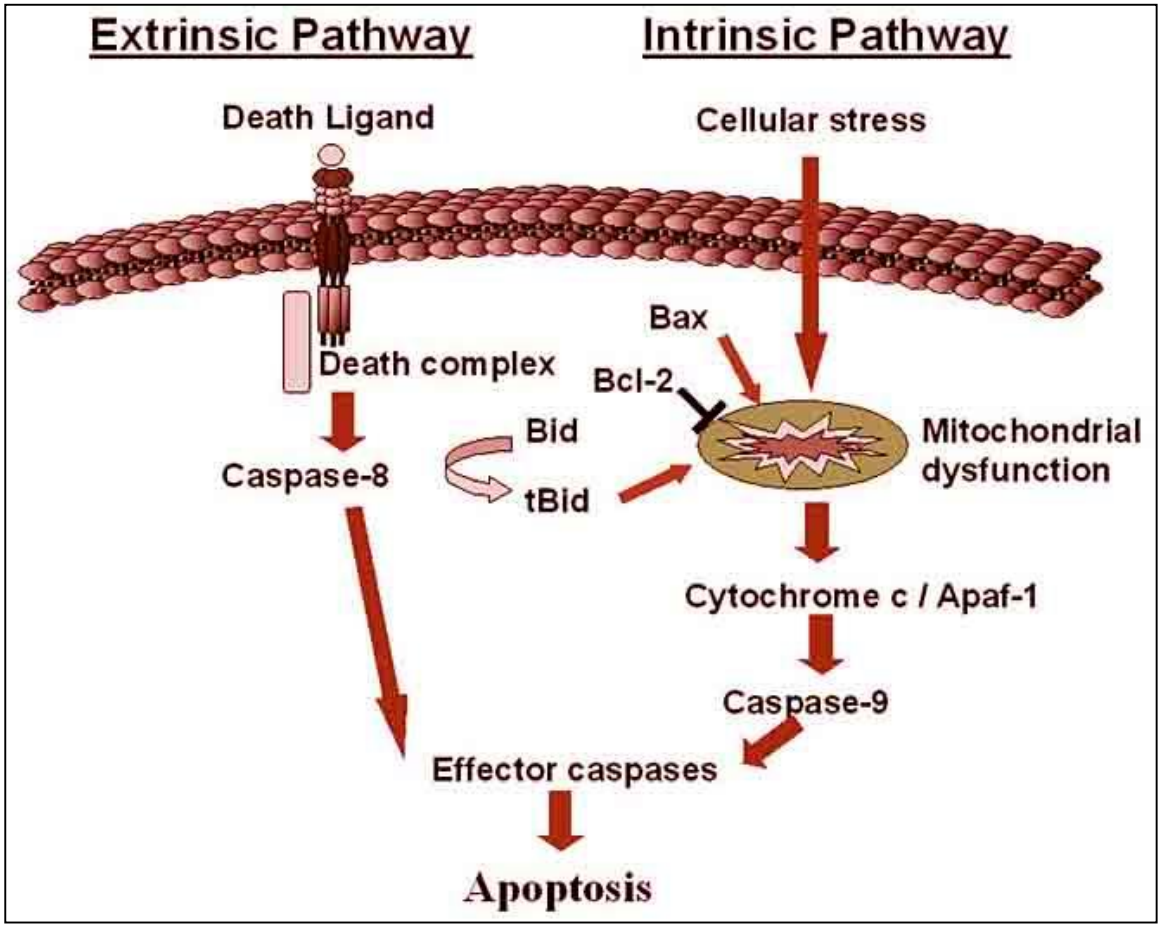
Celluláris stresszfolyamatok





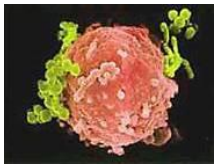
Celluláris stresszfolyamatok

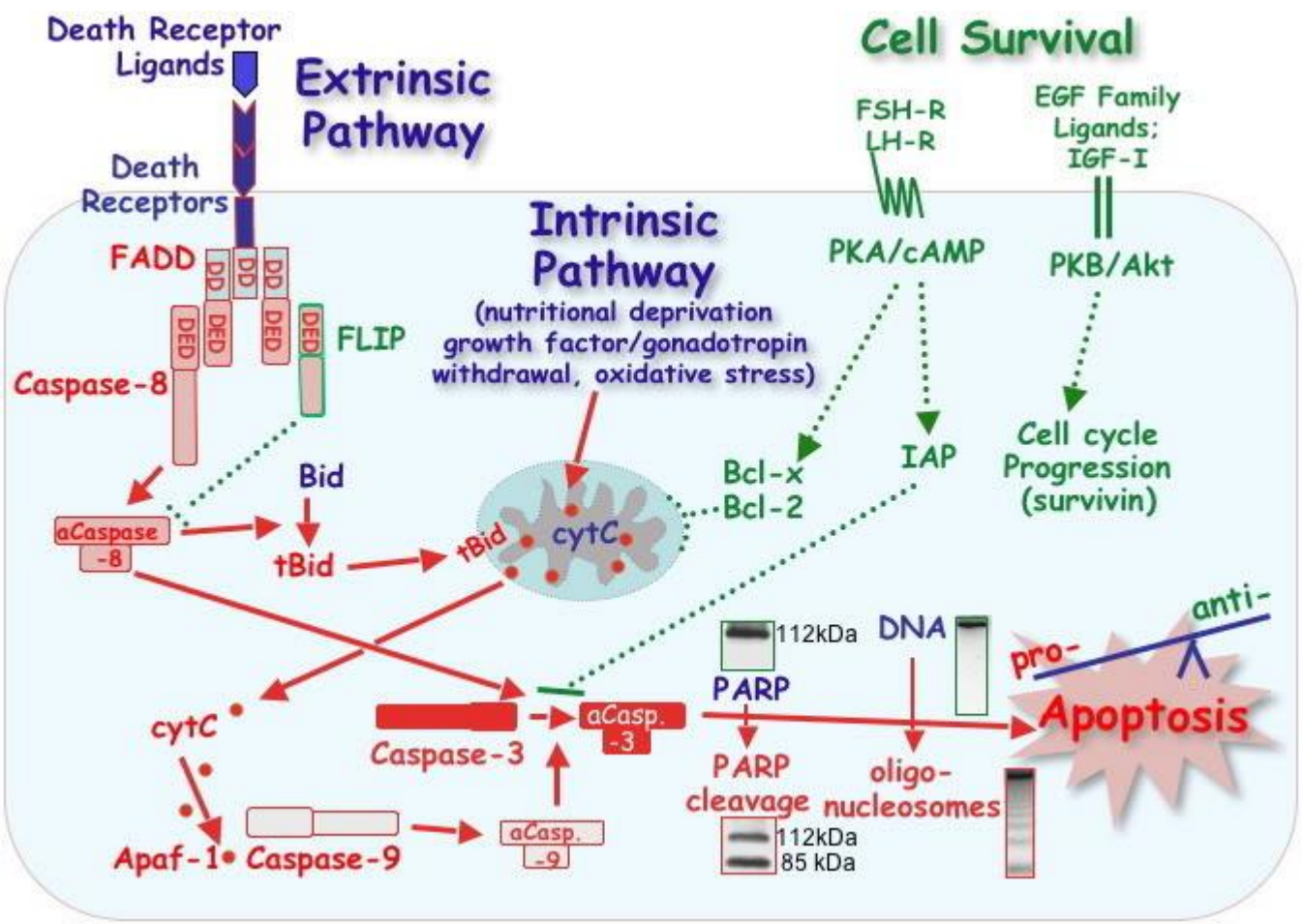




Az apoptózis indukálásának két alapvető útvonala

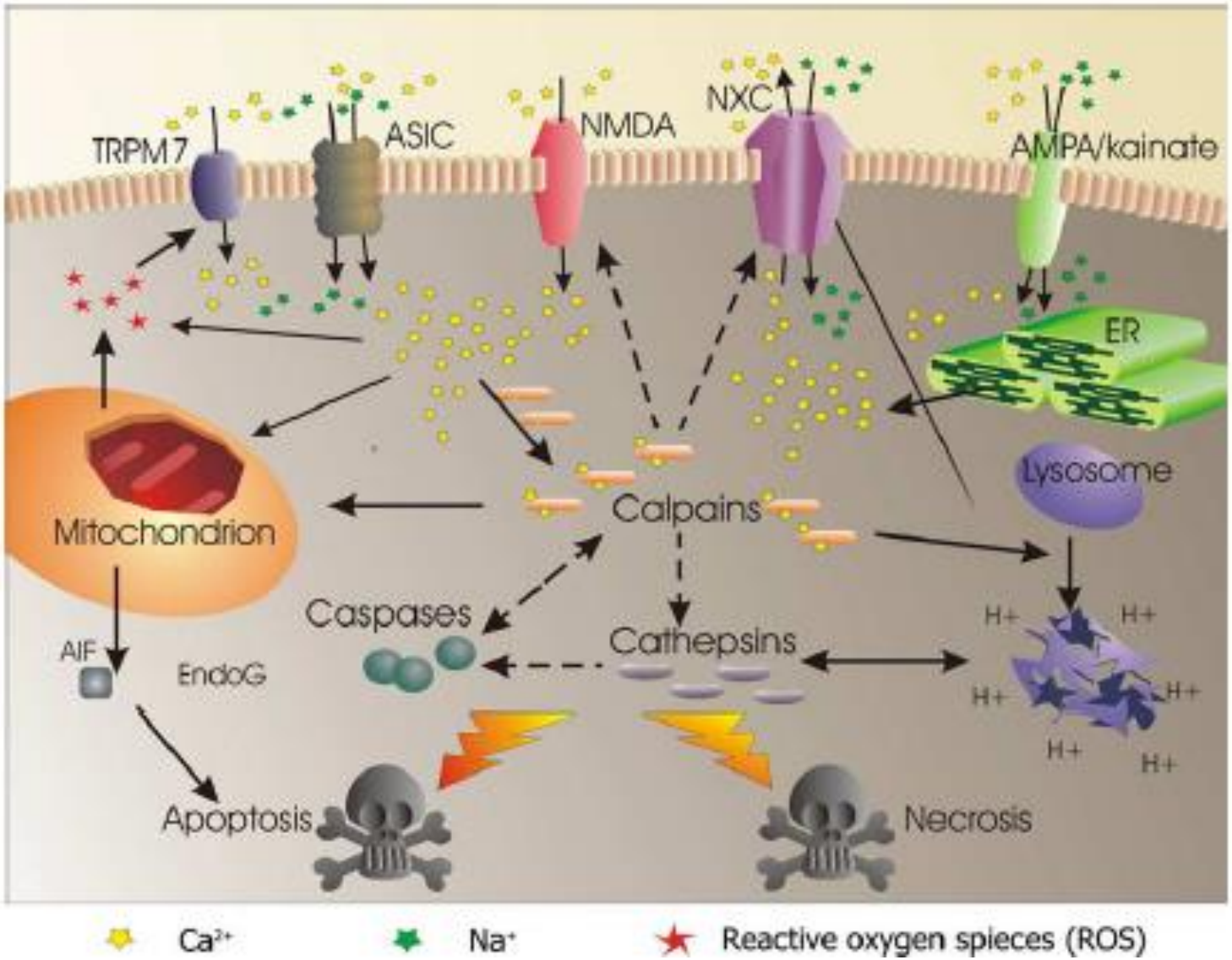
Celluláris stresszfolyamatok





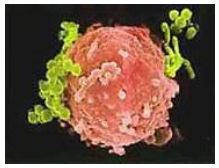
Pro- és anti-apoptotikus folyamatok aktivációja. A külső és a belső aktivációs útvonal is a kaszpáz-3-ra konvergál, melynek változása irreverzibilis. Antiapoptotikus folyamatok azonban ellensúlyozhatják a hatását.

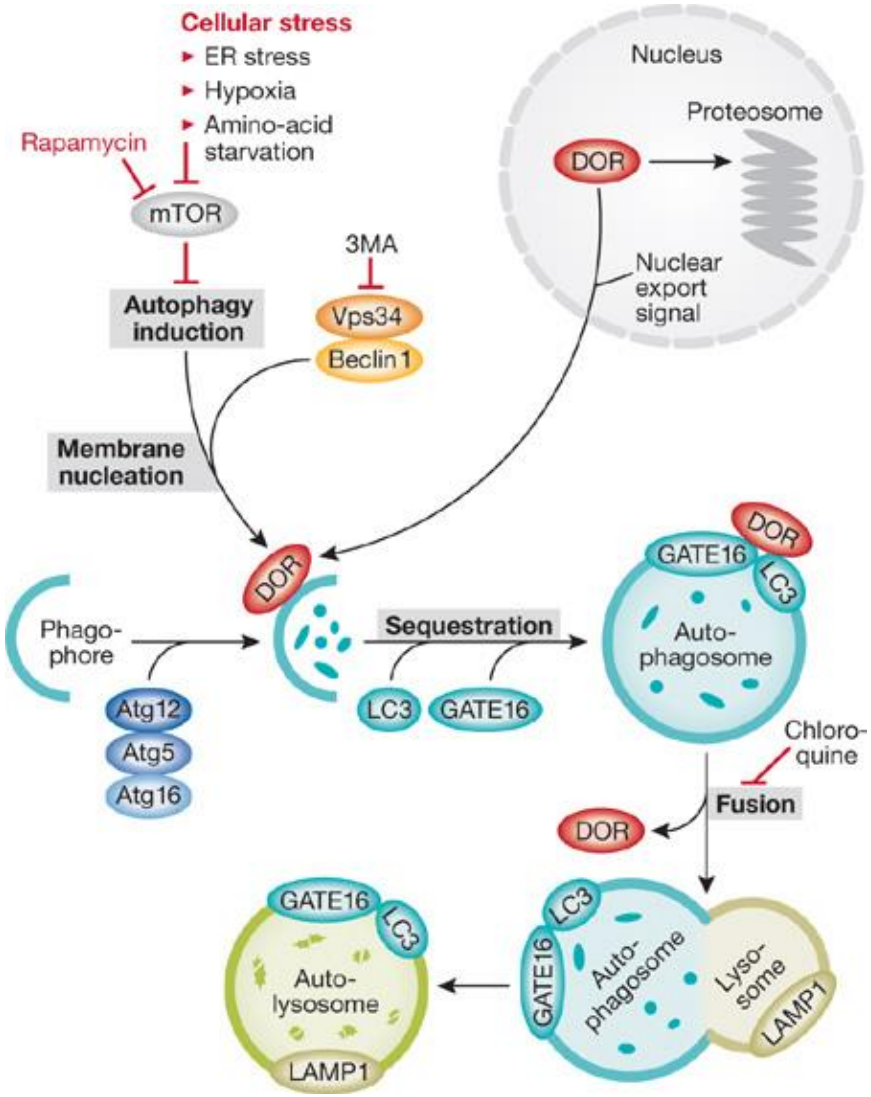
Celluláris stresszfolyamatok



TRPM7: transient receptor potential channel, ASIC: acid sensing ion channel, NXC: non selective ion channel

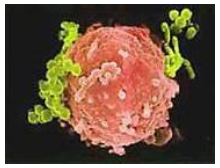
Celluláris stresszfolyamatok





Autofág útvonal aktivációja

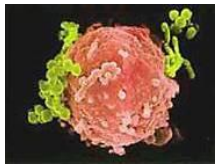
Celluláris stresszfolyamatok

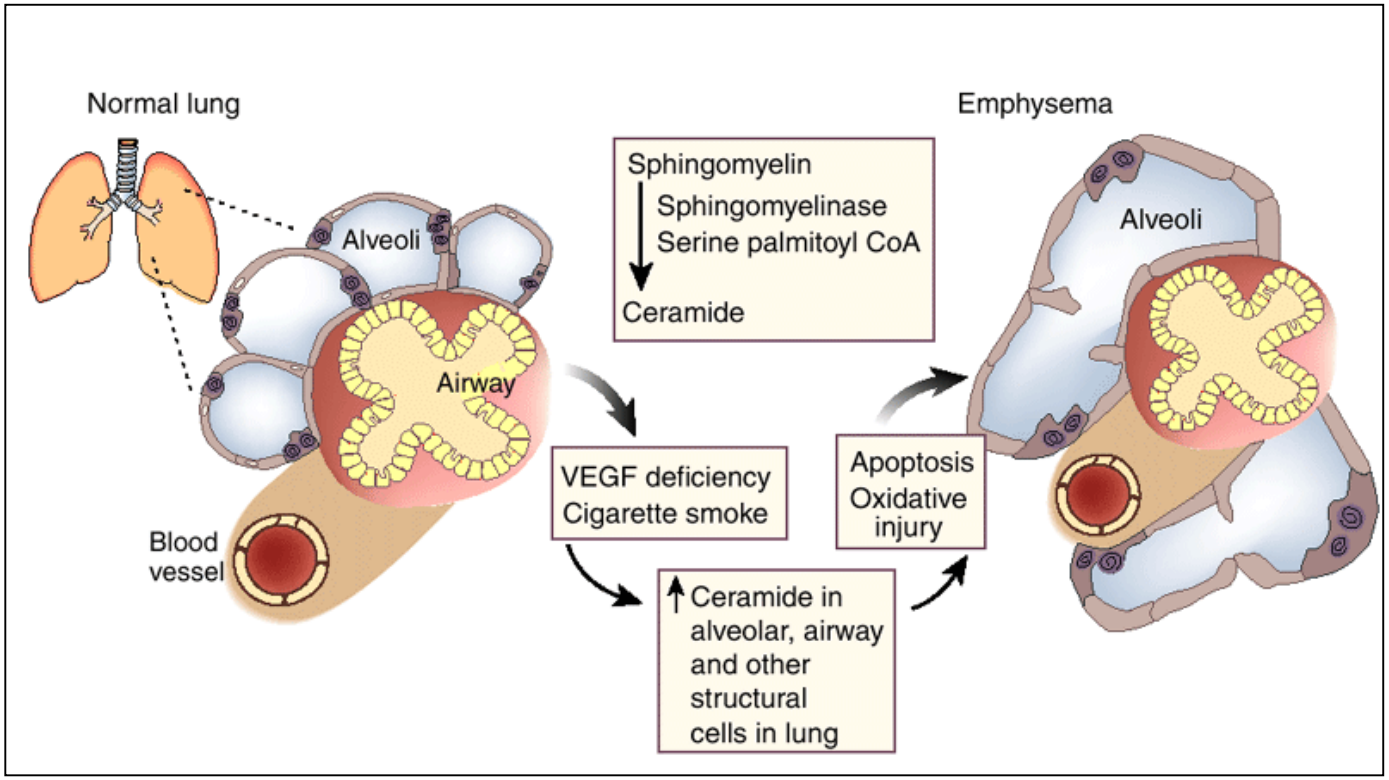


Környezeti hatások manifesztálódása

egypetéjű ikerpárok, a környezeti hatások erősen befolyásolják a megjelenést

Celluláris stresszfolyamatok

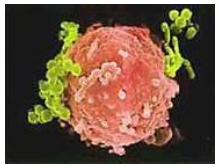


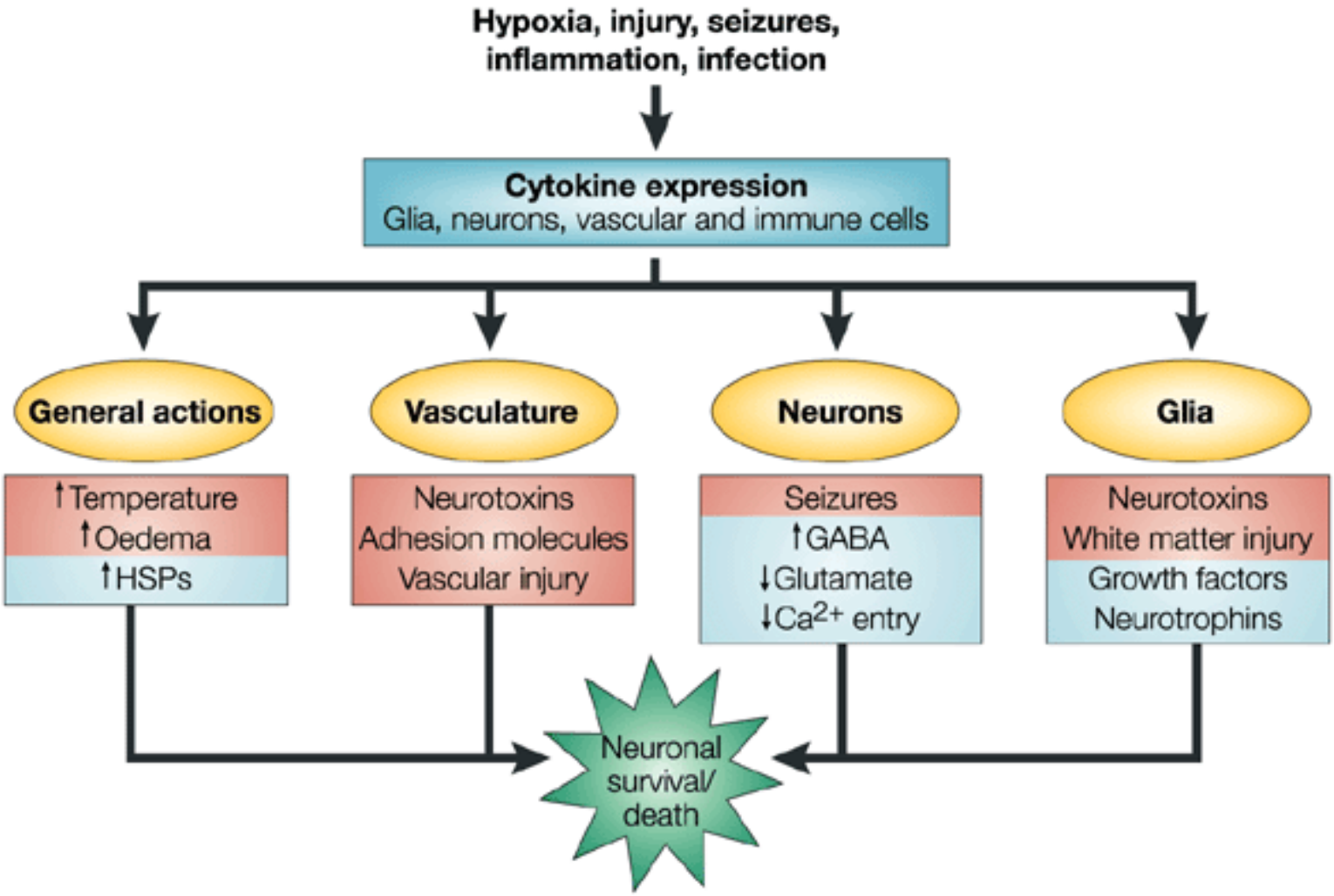


Ceramidok szerepe a tüdő destrukciójában

A dohányzás hatására megváltozott szerkezetű és mennyiségű ceramidok képződnek, ami az endothel és az epithel sejtek struktúráját befolyásolhatják

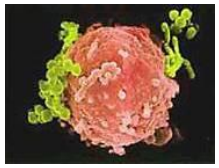
Celluláris stresszfolyamatok

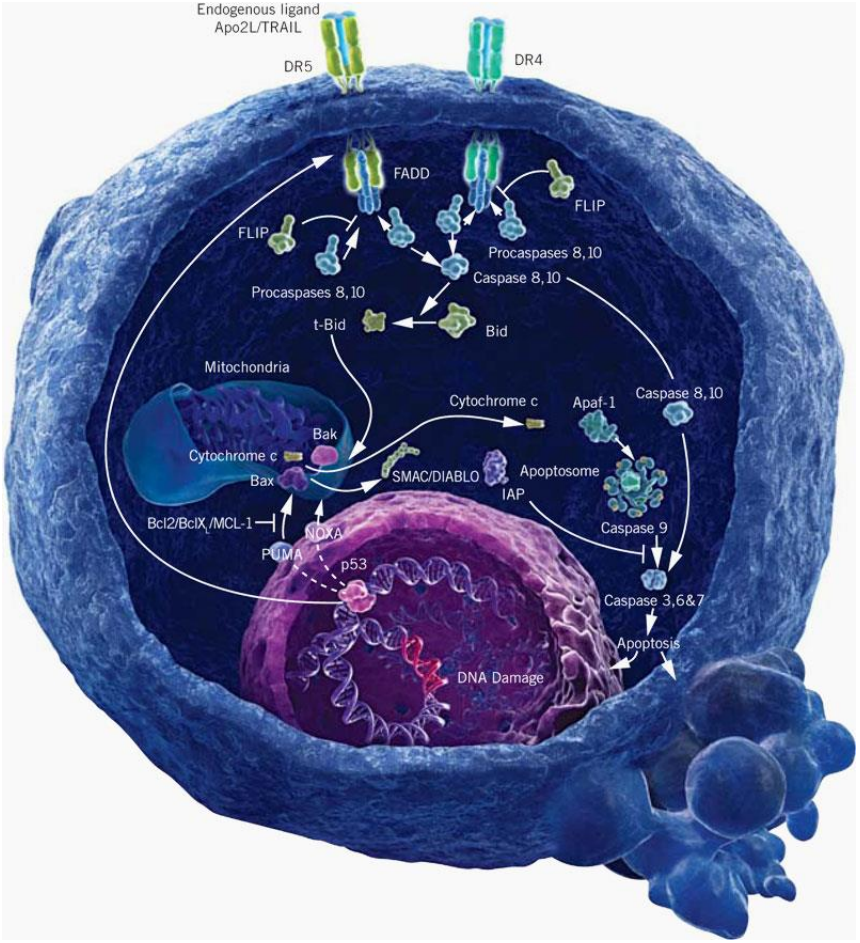




Nature Reviews | Neuroscience

Celluláris stresszfolyamatok

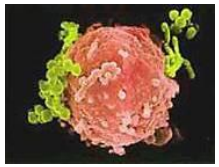




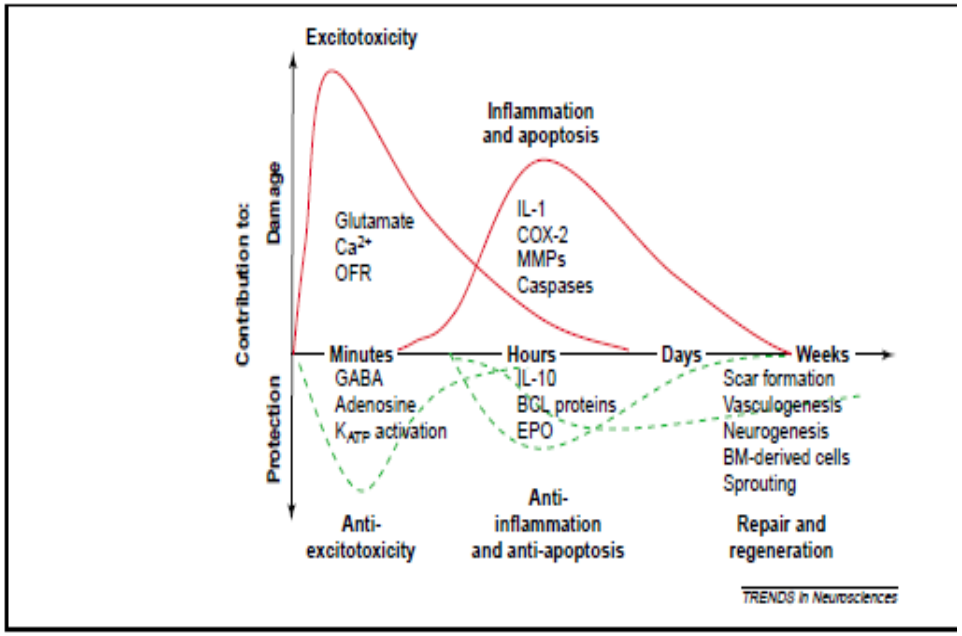
Celluláris stressz aktivált betegségek:

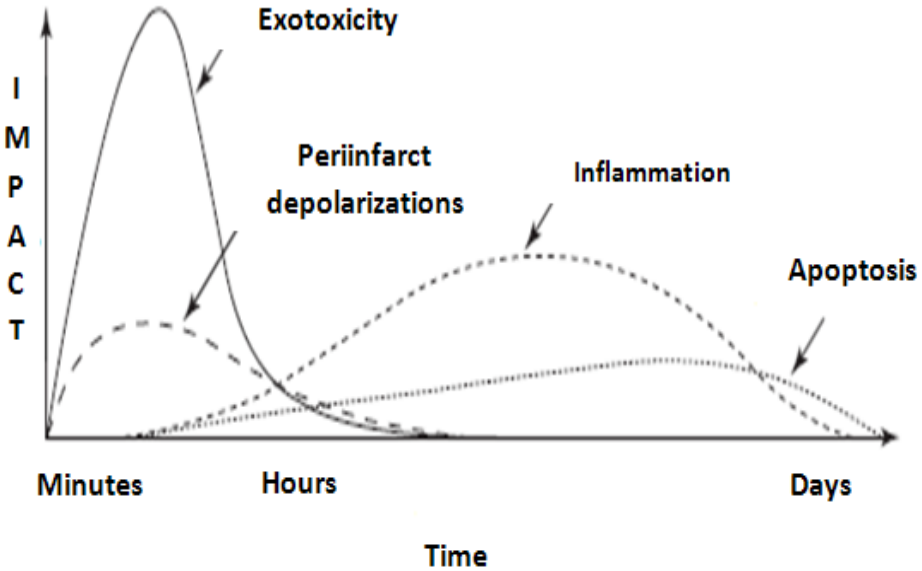
autoimmun betegségek
agyi katasztrófák (sztrok)
szívinfarktus
Parkinson betegség
Alzheimer betegség
mitokondriális diszfunkció

Celluláris stresszfolyamatok



stressz aktiválta sejtfolyamatok időbeli változása:





Fokális cerebralis ischemia komplex sejtpusztító folyamatokat aktiválhat, de védekező mechanizmusok is beindulnak. A reperfúzió során is újabb folyamatok aktiválodnak a szabadgyök képződés miatt.
A piros vonal a patológiás folyamatok súlyosságát és kiváltó okát reprezentálja (excitotoxicitás, késleltetett gyulladás, apoptozis) a zöld vonal a védekező mechanizmusokat mutatja.
rövidítések: BM, bone marrow; COX-2, cyclooxygenase 2; EPO, erythropoietin; IL, interleukin; MMPs, matrix metalloproteinase; OFR, oxygen free radicals.