

Úvod do patologie organel, sekreční proces a jeho poruchy

Radek Jakša

Buněčné organely

- ohraničeny membránou
- maternální původ

- **exocytóza**
 - sekreční proces buňky
 - transport secernované látky
 - sekrečních granulech
 - transportních veziklech
- **sekrece**
 - konstitucionální
 - řízená
 - zevní
 - vnitřní

etáže sekrečního systému

- Hrubé endoplazmatické retikulum (GER)
- Golgiho aparát (GA)

Hrubé endoplazmatické retikulum

- **GER** – přebírá proteiny a signální peptidy syntetizované na ribozomech do lumen a dále:
 - transport do dalších kompartmentů
 - degradace
 - retence v GER
 - retrográdní transport

Golgiho aparát

- **Golgiho komplex** – funkčně polarizované svazky obloukovitých cisteren
- vstupní oblast – **cis**, přivrácena k GER, odděleny tranzitní zónou retikula bohatou na transportní vezikuly – **cis Golgi reticullum network** (CGN) – zde intenzivní oboustranný vezikulární transport
- na sekrečním pólu trans – výstupní **trans Golgi retikulum** = poslední, terminální část, trans Golgi network (TGN)

Funkce GA

- funkce:
 - proteolytická úprava sekretu
 - finální úprava cukerného řetězce N-glykoproteinů
 - glykosylace
 - syntéza sfyngolipidů

charakteristika GA

- mezicisternový transport zajišťují ATP dependentní vezikuly
- směrem k trans GN (TGN) ↓ pH (acidifikace protonovou pumpou)
 - umožňuje terminální disociaci proteinů a GP od transportní ligandy, vhodnou konformaci proteinu
- v TGN část finální inzerce distribučních signálních molekul → distribuce na membránu nebo do ECP

Sekreční procesy

- **zevní sekrece** – hlen, trávicí enzymy, produkt vyloučen do ECP nebo vývodu
- **vnitřní sekrece** - sekret směrem k bazi buňky a do krve – působí systémově
- **parakrinní** – působení na okolní buňky
- **autokrinní** – na sebe samu

sekrece z hlediska dynamiky

- **trvalá** (konstitutivní)
- **regulovaná**

konstitutivní sekrece

- ve všech eukaryontních buňkách
- polarizovaná i nepolarizovaná, trvalý vezikulární transport, neregulovaný
 - inkorporace proteinů a lipidů do glykokalyx membrány
 - sekrece PG do ECM
 - lyzozomální enzymy do ECP
 - protokolagnové peptidy do ECP
 - části viru do membrány
 - proteiny do krve
 - imunoglobuliny, jaterní proteiny, lipoproteiny

konstitutivní sekrece

- transport se děje v mikroveziklech z TGN na:
 - na apikální pól
 - bazolaterální pól
 - membránu bez polarizace
- produkt není významněji modifikován
- zajištění vezikulárního transport do všech organel
- spojení vezikuly s membránou plazmatickou je proces spontánní – záleží na stupni produkce produktu v buňce
- obvykle nelze pozorovat v optickém mikroskopu

Regulovaná sekrece

- ve spec. sekrečních buňkách:
 - žlazové se zymogenními a hlenovými granuly
 - endokrinní
 - heparinocyty,
 - Tc lymfocyty
 - neurony (neurotransmitery)
- skladování sekretu v sekrečních granulích
- nárazové uvolnění do krve, EC tekutiny nebo vývodu
- vzrůstající koncentrace během sekrece

Regulovaná sekrece

- transport působků:
 - separátní
 - v jednom granulu možný transport více proteinů / peptidů (zymogenní enzymy pankreatu)
- řada peptidů a proteinů (zejm. hormonů) skladována v proformě

Patologie sekrece

- poruchy způsobeny častěji chybnou syntézou
- poruchy sekrece
 - proteinů
 - glykoproteinů
 - mukosubstancí

Patologie sekrece

- **retence na úrovni GER**
- často u proteosynteticky značně aktivních buněk
 - hepatocyty, plasmocyty
- konstitucionální sekrece
- morfologicky hyalinní kapénky
- abnormita kompletace secernované molekuly
- precipitace inkompletních molekul proteinů
- někdy skrytě u enzymopatií

Příklady retence na úrovni GER

- **hepatocyty** – deficit alfa-1- antytrypsinu (protein akutní fáze zánětu)
 - mutantní protein agreguje v ER
 - získaná porucha u nádor. transform hepatocytů
- retence lipidů – **steatózy**
- **nenádorové plazmocyty** – retence Ig v cisternách GER
Russelovy, Mottovy buňky
- **nádorové B lymfoidní buňky**
 - poruchy syntézy a sekrece Ig nebo jejich stavebních č.
 - abnormální sekrece
 - abnormální retence

poruchy sekrece hlenů a glykoproteinů

- muciny = glykoproteiny, exokrinní sekrece do lumen vývodů, na povrchy sliznic
- poruchy:
- změny v kvantitě produkce epitelového hlenu
 - hyperfunkce sekrece, snížená vazkost – katarální záněty, u chronických zánětů hyperplazie mucinózních buněk
 - nadprodukce hlenu navíc se zvýšenou vazkostí u asthma bronchiale (příčina neznámá)
 - indukce masivní produkce hlenového materiálu
 - mucinosis follicularis (alopecia mucinosa)
- **Tamm - Horsfalův glykoprotein**
- – v epitelích tlusté části Henleho kličky nefronu, značná vazkost při sníženém pH a snížené koncentraci elektrolytů – vznik válců konjugací s Hb, erytrocyty, Bence - Jonesovou bílkovinou, buněčným detritem
- **nádory** – kvantitativní a kvalitativní odchylky v karcinomech
- **reexprese embryonálních glykoproteinů**
 - alfa fetoprotein, glypican-3

glypican-3 v HCC

- onkofetální protein
- glykoprotein
 - heparansulfát
- fyziologická exprese
 - fetální játra
 - syncytiotrofoblast

zvláštní poruchy sekrece

- nekontrolovaná předčasná aktivace enzymů zymogenních granul, snad intracelulární kolize sekreční dráhy proteolytických proenzymů a lyzomálních enzymů (zejména trypsinu) s rozpadem *m. limitans* → řetězová propagace proteolýzy

poruchy přídatných mechanismů exokrinní sekrece

- změny vazkosti hlenu:
- vazkost dána:
 - sulfatací a délkou oligosacharidových řetězců
 - obsahem iontů a vody
 - regulace chloridovým kanálem (transmembránový GP) v apikální části slizničních a žlazových epitelí – **CFTR**
 - koncentrace Ca^{++}
 - zvýšená c = snížená vazkost
 - interakce hlenů GIT s albuminem → málo rozpustný komplex

Cystická fibróza (mucoviscidóza)

- nejčastější letální vrozené onemocnění (AR)
 - incidence 1:2500
- **mutace genu pro CTFR protein** (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*, **7q**)
 - nejčastěji mutace $\Delta F508$
 - cAMP dependentní chloridový kanál
 - retence Cl^- v bronchiálních žlázkách + sekundární absorpce H_2O a Na^+ do buněk
 - dehydratace hlenu
- postižení všech **exokrinních a potních žláz**
 - v potních žlázkách mechanismus transportu opačný → abnormálně zvýšená salinita potu
- **dehydratace hlenu → poruchy pasáže, obstrukce**

denzní granula

- sekrece polypepidových působků, biogenních aminů (serotonin, adrenalin, noradrenalin, histamin)
- endokrinní (parakrinní a hematogenní endokrinní sekrece) i elementy neurální (synapse)
- tvorba v TGN či v neuronech v perikariu → axonální transport
- **chromograniny (ABC)** – součástí matrix sekrečních neuroendokrinních granul, zřejmě nosiče katecholaminů

chromogranin

- pozitivita závisí na počtu denzních granul
- spolu se synaptofyzinem marker NE diferenciacce
- exprese
 - neuroendokrinní tumory
 - medulární karcinom ŠŽ
 - nádory parathyroidey
 - paragangliom
 - karcinoidy

synaptické vezikly

- zejména neurální zakončení (synaptické váčky)
 - cirkulace exocyticko- endocytickým okruhem,
- v některých epitelových endokrinních buňkách podobné struktury
- membránové komponenty vezikul
 - **synaptofyzin**
 - integrální membránový GP v synaptických váčkách i v endokrinních buňkách mimo granula
 - v membránách všech forem neuroendokrinních sekrečních struktur

synaptofyzin

- presynaptický PNS a CNS
- adrenální kortikální adenomy a karcinomy
- dřeň nadledviny, feochromocytom
- neuroendokrinní buňky:
 - karotického tělíška
 - kůže
 - hypofýzy
 - ŠŽ
 - plíce
 - pankreas
 - GIT

- paragangliom
- Langerhansovy ostrůvky
 - tumory
- medulární ca ŠŽ
- karcinoidy

odlišné způsoby endokrinní sekrece

- steroidní hormony
- sekrece tyroxinu
 - nelze postihnout morfologicky
 - u thyroxinu
 - syntéza TGB
 - posttranslační úprava, jodifikace
 - skladování
 - endocytóza
 - lysozomální hydrolýza → uvolnění funkčně aktivního tyroxinu

Endosomální a lyzozomální systém

- průnik látek do buňky:
- a) bez omezení
 - nepolární neutrální nízkomolekulární látky
 - volné MK
- b) transportními procesy na membráně
 - polární molekuly
- c) endocytózou
 - biopolymery, rozklad na výchozí molekuly

Endosomální a lyzomální systém

charakteristika

- vakuolární oddíly s obsahem kyselých hydroláz
- rozklad endocytovaných biopolymerů na výchozí komponenty
- jejich reutilizace

zdroje biopolymerů

- **extracelulární prostor (ECP)**
 - látky se dostávají do endozomálního kompartmentu
 - endocytózou
 - fagocytózou
- **cytoplazma s organelami**
 - autofagoctyóza
- **přímý transport biopolymerů z cytozolu do lyzomů**

endocytóza

- liganda navázaná na receptor
v preformované jamce (*coated-pit*)
- → invaginace BM → +
interiorizace EC tekutiny
(pinocytóza)
- nedochází zde ke koncentraci
rozpuštěných látek
- výskyt u všech buněk – zejm.
hepatocyty, prox. tubul epitelie,
folikulocyty thyroidey, histiocyty
- účast proteinu **clathrinu**

fagocytóza

- příležitostná, neúčast clathrinu, účast aktinu, částečně závislý na receptorech, zčásti interakce neznámá
- vlastnost všech buněk
- vznik fagosomu (z buněčné membrány) → splynutí s lyzosemem (fagolyzosom)
 - blok splynutí např u *m. tuberculosis*
 - recyklace důležitých komponent zpět na buněčnou membránu
 - pokud nerecyklovány – hydrolýza na základní stavební látky → difúze přes membránu lyzosomu do cytozolu (nebo aktivním transportem) → reutilizace

endosomální systém

- **časný endosom**

- systém komunikujících váčků a vezikul, přijímá endocytické váčky, uvnitř pokles pH → rozpojení liganda + receptor → recyklace receptoru zpět na membránu

- **endosomální transportní vezikula**

- pučí z časného endosomu

- **pozdní endosom (prelysozom)**

- nejvyšší koncentrace Manosa-6-fosfát receptoru M, směřuje transport lysozom. enzymů z GA (trans), zde modifikace a solubilizace enzymů, objevují se zde integrální speciální GP (vakuoly, tubulocisterny) zde setkání substrátu a enzymu → degradace

- **lyzosom**

- obsahuje pouze enzymy a integrální proteoglykany v *membrabna limitans*

• v polarizaci endozomálního systému hrají roli mikrotubuly + mechanoenzymy
(dynamin, kinesyn, dynein)
toxiny a změna pH mohou dynamiku narušit

autofagocytóza

- odstranění poškozených nebo nadbytečných úseků cytoplazmy obsahujících membránové organely
 - hypertrofie → eutrofie → atrofie
 - hladovění

procesy připomínající fagocytózu

- **transcytóza**

- přenos mezi dvěma póly buněk
 - imunoglobuliny skrze respirační epitel
 - cévní endotel
 - toxiny některých infekčních agens

- **emperipolesis**

- pohlcení celé buňky, nedochází k destrukci buňky
 - fyziologicky v KD a v GIT
 - patologicky: Rosai - Dorfmanova choroba
 - lymfadenopatie s masivní histiocytózou

patologie endosomálního systému

přehled

- relativní lyzozomální insuficience
- primární enzymopatické stavy (dědičné lyzozomální enzymopatie)
- stavy spojené s akumulací reziduálních lyzozomálních tělísek
- sdružený defekt lyzozomů, sekrečních granul a melanosomů

relativní lyzozomální insuficience

- hyalinní zkapénkovatění
- cholemická nefróza
- Councilmanova tělíska
- steatóza histiocyťů

dědičné lyzosomální enzymopatie

- střádavá onemocnění (tezaurismózy)
 - hromadění substrátu deficitního enzymu → progresivní expanze lyzosomálního systému → organomegalie
 - některé substráty uvolňovány do ECM → dysmofie, dysostózy (zvýšené MPS v ECM kolagenního vaziva a kostech)
 - někdy vylučování močí, stolicí
- příčiny tesaurizmóz:
 - primární porucha struktury enzymu
 - nedostatek enzymového aktivátoru
 - nedostatek protektivních proteinů zabraňujících proteolýze enzymu (vzácné)
 - chybná distribuce

- lipidózy
- glykogenózy
- mukopolysacharidózy
- sulfatidózy

- charakter akumulovaného proteinu závisí na rozsahu substrátové specificity enzymu:
 - homokatalytické
 - jeden enzym štěpí jeden substrát
 - deficit sfyngomyelinázy → hromadí se sfyngomyelin (m. Niemann – Pick)
 - glukocerebrosidázy → glukocerebrosid (m. Gaucher)
 - heterokatalytické
 - jeden enzym štěpí více substrátů
 - beta galaktosidáza odštěpuje beta galaktosid z glykosfyngolipidů a GP
- akumulovaný substrát:
 - celá původní molekula
 - mezistupeň v degrační řadě

mukopolysacharidózy, mukolipidózy

- vzácné, většinou AR
- hromadění proteoglykanů charakteru *heparan, dermatan, chondroitin a keratansulfátů* v lysosomech buněk pojiva a jiných
- symptomatologie:
 - trpaslictví
 - mentální retardace (mozková atrofie)
 - dysmorfie obličeje (gargoilismus), deformace skeletu, deformace chlopní, ztlustění artérií
 - často organomegalie
- mukolipidózy
 - obdobný obraz, chybí mukopolysacharidy v moči

Table 1 - Mucopolysaccharidosis classification²

| Type | Eponym | Enzyme deficiency | Glycosaminoglycans excreted in urine | Inheritance |
|---------|--|--|--------------------------------------|-------------|
| MPS I | Hurler Hurler/Scheie Scheie | α -L-iduronidase | ds/hs | AR |
| MPS II | Hunter | Iduronate sulfatase | ds/hs | XLR |
| MPS III | Sanfilippo A Sanfilippo B Sanfilippo C Sanfilippo D | Heparan N-sulfatase α -N-acetylglucosaminidase Acetyl-coa- α -glucosaminide Acetyltransferase N-acetylglucosamine -6-sulfatase | hs | AR |
| MPS IV | Morquio A Morquio B | Galactosamine-6-sulfatase β -galactosidase | ks/ chondroitin 6-sulphate ks | AR AR |
| MPS VI | Maroteaux-Lamy | N- acetylgalactosamine 4-sulfatase | ds | AR |
| MPS VII | Sly | β -Glucuronidase | ds/hs/chondroitin 4-,6-sulphate | AR |
| MPS IX* | Natowicz | Hyaluronidase | Hyaluronic acid | AR |

AR = autosomal recessive; ds = dermatan sulphate; hs = heparan sulphate; ks = keratan sulphate; MPS = mucopolysaccharidoses; XLR = X-linked recessive.

* Just one patient has been described in the literature.

stavy spojené s akumulací reziduálních lyzosomálních tělísek

- neznámá patogeneze
- dříve nazývány terciární lyzosomy
 - lipopigmenty
 - ceroid
 - lipofuscin
 - siderosomy
 - kuprosomy

sdružený defekt lyzozomů, sekrečních granul a melanosomů

- Heřmanského – Pudlákův sy
 - AR dědičnost
 - masivní ceroidóza tkání
 - plíce → fibróza
 - ledviny
 - okulokutánní albinismus
 - defektní skladování denzních granul v trombocytech (trombocytopatie) → protrahované krvácení (trombocytopatická purpura)

cytologický vzhled strádajících buněk

- dán počtem a velikostí expandovaných lyzozomů
- obsahem
 - **solubilní** v organických rozpustidlech (lipidy) nebo vodným fixativu (glykopeptidy, oligosacharidy) → mikrovakulizace až voštinovité buňky (kapénky)
 - **nesolubilní** – lipopigmenty, bakterie, glykogen) – obvykle granulovaný, někdy žíhaný vzhled (Gaucherova choroba)

následky lyzosomálního strádání

- interakce s funkcí a vitalitou buňky ne zcela jasná
- **distenze lyzosomálního systému:**
 - toxické působení
 - hypertrofie → organomegalie → orgánová dysfunkce → insuficience (kardiomegalie)
 - renální insuficience (poruchy ECM mesangia)
 - vazivo, kosti → dysmorfie, u srdečních chlopní vady
 - játra → cirhóza
 - mozek → atrofie, glióza

- **disrupce lyzomů**

- depozice mikrokrytalů

- anorganických

- kalcium pyrofosfát → chondrokalcinóza (vápenná dna)

- SiO₂ → silikóza

- organických

- krystaly urátů → dna

lyzosomy a infekční onemocnění

- **lyzosomy a infekce:**
- fagocytóza a likvidace agens ve fagolyzosomu předpoklad pro potlačení infekce
- některé mikroorganismy lyzují membránu fagosomu bakteriálními hemolysiny, fosfolipázami) → průnik do cytoplasmy
- **mykobakterie** → znemožňují fúzi fagosomu a lyzosomu (peptidoglykolipidy buněčné stěny)
- **salmonely** – transcytóza enterocytem do *I. propria mucosae* → fagocytóza histiocyty → ve fagosomech dlouhodobá perzistence
- **leishmanie** → persistují ve fagolyzosomech, tvorba megavakuol
- **legionely** – zavzaty do výběžků cytoplazmy, internalizace zprostředkovány R pro komplement, vakuola nemá charakter fagosomu, při m. limitas se hromadí MIT a ribosomy