

Министерство образования Республики Беларусь  
Белорусский государственный университет  
Биологический факультет  
Кафедра генетики

СОГЛАСОВАНО  
Заведующий кафедрой  
Максимова Н. П.

«03» февраля 2022 г.

СОГЛАСОВАНО  
Декан факультета  
Демидчик В. В.

«23» февраля 2022 г.

СОГЛАСОВАНО  
Председатель  
учебно-методической комиссии факультета  
Поликсенова В. Д.

«23» февраля 2022 г.

Цитология и гистология

Электронный учебно-методический комплекс  
для специальностей:

1-31 01 01 «Биология»,

1-31 01 02 «Биохимия»,

1-33 01 01 «Биоэкология»,

1-31 01 03 «Микробиология»

Регистрационный № 2.4.2-20/240

Составители:

Глушен С. В., кандидат биологических наук, доцент;

Гринев В. В., кандидат биологических наук, доцент;

Кожуро Ю. И., кандидат биологических наук, доцент.

Рассмотрено и утверждено на заседании Научно-методического совета БГУ  
18.03.2022 г., протокол № 4.

Минск 2022

УДК 576.3(075.8)+611.018(075.8)  
Ц 747

Утверждено на заседании Научно-методического совета БГУ  
Протокол № 4 от 18.03.2022 г.

Решение о депонировании вынес:  
Совет биологического факультета  
Протокол № 7 от 23.02.2022 г.

С о с т а в и т е л и :

Глушен Сергей Витальевич, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры генетики биологического факультета Белорусского государственного университета;

Гринев Василий Викторович, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры генетики биологического факультета Белорусского государственного университета;

Кожуро Юрий Иосифович, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры генетики биологического факультета Белорусского государственного университета.

Рецензенты:

кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии Учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (заведующий кафедрой Студеникина Т. М., кандидат медицинских наук, доцент);

Сидоров А. В., профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Белорусского государственного университета, доктор биологических наук, профессор.

Цитология и гистология : электронный учебно-методический комплекс для специальностей: 1-31 01 01 «Биология», 1-31 01 02 «Биохимия», 1-33 01 01 «Биоэкология», 1-31 01 03 «Микробиология» / сост.: С. В. Глушен, В. В. Гринев, Ю. И. Кожуро ; БГУ, Биологический фак., Каф. генетики. – Минск : БГУ, 2022. – 110 с. : табл. – Библиогр.: с. 109–110.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов специальностей 1-31 01 01 «Биология», 1-31 01 02 «Биохимия», 1-33 01 01 «Биоэкология» и 1-31 01 03 «Микробиология» биологического факультета Белорусского государственного университета. Предлагаемый ЭУМК включает изучение техники микроскопии клеток и тканей, структурно-функциональной организации эукариотической клетки на уровне субклеточных органелл и макромолекулярных комплексов, разнообразия клеток, их дифференцировку и объединение в надклеточные ансамбли – ткани.

## СОДЕРЖАНИЕ

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА .....	4
1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ .....	6
КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ ПО КУРСУ «ЦИТОЛОГИЯ И ГИСТОЛОГИЯ» .....	6
1.1. Введение в цитологию .....	6
1.2. Структурно-функциональная организация клеточных мембран .....	7
1.3. Везикулярная система клетки .....	10
1.4. Митохондрии и пластиды .....	18
1.5. Цитоскелет .....	24
1.6. Клеточное ядро .....	29
1.7. Рибосомы и биосинтез белка .....	39
1.8. Размножение и гибель клеток .....	44
1.9. Эпителиальные ткани .....	56
1.10. Ткани внутренней среды .....	67
1.11. Мышечные ткани .....	87
1.12. Нервная ткань .....	92
2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ .....	100
3. РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ .....	104
3.1. Структура рейтинговой системы .....	104
3.2. Задания для управляемой самостоятельной работы студентов .....	104
3.3. Тематика рефератов и эссе .....	105
3.4. Вопросы для подготовки к экзамену .....	106
4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ .....	109

## ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) по учебной дисциплине «Цитология и гистология» разработан в соответствии с требованиями Положения об учебно-методическом комплексе на уровне высшего образования и предназначен для студентов специальностей 1-31 01 01 «Биология», 1-31 01 02 «Биохимия», 1-33 01 01 «Биоэкология» и 1-31 01 03 «Микробиология». Содержание разделов ЭУМК соответствует образовательному стандарту высшего образования специальности. Главная цель ЭУМК – оказание методической помощи студентам в систематизации учебного материала в процессе подготовки к аттестации по учебной дисциплине «Цитология и гистология».

Предметом учебной дисциплины «Цитология и гистология» являются техника микроскопии клеток и тканей, структурно-функциональная организация эукариотической клетки на уровне субклеточных органелл и макромолекулярных комплексов, разнообразие клеток, их дифференцировка, а также объединение клеток в надклеточные ансамбли, или ткани, их структурное и функциональное разнообразие.

ЭУМК предназначен для более полного и глубокого изучения дисциплины студентами, в результате чего обучающийся должен: **знать** принципы структурно-функциональной организации клеток эукариот, закономерности пролиферации клеток, их деления путем митоза и мейоза, а также их генетически детерминированной физиологической гибели путем апоптоза, свойства стволовых клеток и закономерности функциональной специализации порождаемых ими клеточных клонов при формировании тканей и органов многоклеточных организмов, классификацию и морфофизиологию основных тканей животных и человека, закономерности их гистогенеза и регенерации; **уметь** настраивать световой микроскоп и исследовать с его помощью готовые цитологические и гистологические препараты, изготавливать препараты растительных и животных клеток и проводить их цитологическое исследование, идентифицировать гистологические препараты основных типов тканей и делать их зарисовки; **владеть** навыками работы со световым микроскопом, методами фиксации и окраски препаратов, подходами визуализации клеточных органелл.

Структура ЭУМК включает:

1. Учебно-методическое обеспечение дисциплины.

1.1. Теоретический раздел (учебные материалы для теоретического изучения дисциплины в объеме, установленном типовым учебным планом по специальности).

1.2. Практический раздел (материалы для проведения лабораторных занятий по дисциплине в соответствии с учебным планом).

2. Контроль самостоятельной работы студентов (материалы текущей и итоговой аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям образовательных стандартов высшего образования и учебно-программной документации, в т.ч. вопросы для подготовки к экзамену, задания, тесты, вопросы для самоконтроля, тематика рефератов и др.).

### 3. Раздел контроля знаний.

3.1. Учебно-программные материалы (учебная программа для учреждения высшего образования по учебной дисциплине).

3.2. Информационно-аналитические материалы (список рекомендуемой литературы, перечень электронных образовательных ресурсов, их адреса и др.).

Работа с ЭУМК должна включать на первом этапе ознакомление с тематическим планом дисциплины, представленным в учебной программе, а также тематикой лекций и лабораторных занятий. Для подготовки к лабораторным занятиям и промежуточным зачетам необходимо использовать материалы, представленные в разделе учебно-методическое обеспечение дисциплины, а также материалы для текущего контроля самостоятельной работы. В ходе подготовки к итоговой аттестации рекомендуется ознакомиться с требованиями к компетенциям по дисциплине, изложенными в учебной программе, структурой рейтинговой системы, а также перечнем вопросов к экзамену. Для написания рефератов могут быть использованы информационно-аналитические материалы, указанные в соответствующем разделе ЭУМК.

## 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

Теоретический раздел включает конспект лекций по дисциплине «Цитология и гистология» для студентов специальностей 1-31 01 01 Биология, 1-31 01 02 Биохимия, 1-33 01 01 Биоэкология и 1-31 01 03 Микробиология. В пособии излагается материал всего лекционного курса, в том числе по вопросам микроскопии, организации клетки как системы, структурно-функциональной организации клеточных мембран, везикулярной системы клетки, двумембранных органелл, опорно-двигательной системы клетки, организации ядра клетки, участия рибосом в биосинтезе белка, а также размножения и гибели клеток. Кроме того, особое внимание в пособии уделено стволовым клеткам и дифференцировке, разнообразию типов клеток и их организации в эпителиальных тканях, тканях внутренней среды организма, мышечных тканях и нервной ткани.

### КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ ПО КУРСУ «ЦИТОЛОГИЯ И ГИСТОЛОГИЯ»

#### 1.1. Введение в цитологию

Цитология – это биологическая наука, которая изучает строение, функции, индивидуальное развитие и эволюцию клеток. Термин «цитология» образован из двух греческих слов: китос – сосуд и логос – наука. Как самостоятельная наука цитология сформировалась к концу XIX в. В 1884 г. вышла книга французского ученого Жана Батиста Карнуа «Биология клетки», в которой был обобщен накопленный к тому времени материал и дано обоснование трех основных задач микроскопического исследования живых организмов – общей, сравнительной и специальной биологии клетки или цитологии. Эту дату и можно считать началом самостоятельного развития цитологии.

Как каждая самостоятельная наука, цитология имеет собственный предмет, методы и теоретическую основу. Предметом цитологии является клетка, основным методом исследований – микроскопия, а теоретической основой – клеточная теория. Поэтому на формирование цитологии наибольшее влияние оказали такие события, как изобретение микроскопа, открытие клетки и создание клеточной теории.

Первый микроскоп был сконструирован итальянским физиком Г. Галилеем в 1609 г. как модификация созданного им ранее телескопа. Он представлял собой длинную трубу с выпуклым объективом и вогнутым окуляром и дальнейшего распространения не получил. С помощью этого микроскопа Ф. Стеллучи в 1625 г. обнаружил фасеточное строение глаза пчелы, а Ф. Чези в 1628 г. изучал споры папоротника. Последующие модели микроскопов, которые изготавливали по схеме И. Кеплера, представляли собой настольные приборы с выпуклым объективом и окуляром. Одновременно с конца XVI в. стали широко использоваться так называемые «простые микроскопы», состоявшие из одной двояковыпуклой линзы небольшого диаметра. Именно таким прибором пользовался открывший простейших голландец А. Левенгук (1632-1723).

Клетки растений были впервые описаны английским физиком Р. Гуком в книге «Микрография», опубликованной в 1665 г. Изучая срезы пробки, сердцевины бузины и мякоти других растений, Р. Гук обнаружил, что все они состоят из однотипных структур – замкнутых пузырьков, которым он дал название *cellula* (ячейка). Он также вычислил, что в одном кубическом дюйме растительной ткани (1 дюйм = 25,4 мм) содержится около 125 млн. клеток. Открытие клетки Р. Гуком стимулировало микроскопические исследования живых организмов. В 1671 г. вышли в свет работы итальянца М. Мальпиги «Анатомия растений» и англичанина Н. Грю «Начала анатомии растений», которые были посвящены изучению микроскопического строения растений. Полагая, что органы растений состоят в основном из переплетенных волокон, Н. Грю ввел в цитологию понятие «ткань».

Клеточная теория была изложена немецким ученым Т. Шванном в монографии «Микроскопические исследования», которая была опубликована в 1839 г. В ней Т. Шванн обосновал принципы, заложившие теоретические основы цитологии:

- как растения, так и животные состоят из универсальных микроскопических структур – клеток;
- сходство растительной и животной клеток вытекает из общих принципов их строения и размножения;
- каждая клетка самостоятельна в своей жизнедеятельности;
- организм представляет собой совокупность большого числа клеток.

Понимание универсальности клеточного строения живых организмов явилось одним из главных факторов развития цитологии и других биологических наук.

## **1.2. Структурно-функциональная организация клеточных мембран**

Новые мембраны в клетке образуются только на основе уже существующих мембран. Поэтому все мембраны цитоплазмы связаны между собой в единую систему. В нее входят плазмолемма, плазматическая сеть, пластинчатый комплекс, эндосомы, лизосомы, пероксисомы и другие мембранные органоиды. Рассмотрим базовые принципы структурно-функциональной организации клеточных мембран на примере плазмолеммы.

Плазмолемма (цитолемма, плазматическая мембрана) создает селективный барьер между клеткой и внешней средой. Уже в начале XIX в. было обнаружено набухание и сжатие клеток, погруженных в растворы различной ионной силы, что свидетельствовало о наличии на поверхности клетки полупроницаемой мембраны. В 30-е гг. XX в. было доказано, что она состоит из липидов и белков, причем липиды образуют в ней бимолекулярный слой. Плазмолемма непроницаема для макромолекул, поэтому белки цитоплазмы создают в клетке осмотическое давление, под действием которого вода непрерывно поступала бы в клетку, если бы вне клетки не поддерживалась уравнивающая концентрация других веществ. Это равновесие создается, прежде всего, молекулярным насосом, который выкачивает из клетки ионы натрия и закачивает в клетку ионы калия.

За счет разности концентраций ионов внутри и вне клетки плазмолемма приобретает потенциал до +85 мВ.

В электронном микроскопе плазмолемма выглядит как типичная биологическая мембрана, состоящая из двух электронноплотных слоев, между которыми находится электроннопрозрачный слой. Общая толщина всех трех слоев в плазмолемме составляет 12-14 нм. Однако надо отметить, что эта трехслойная структура является лишь основой плазмолеммы, поскольку к ней снаружи и изнутри примыкают слабоконтрастируемые молекулярные комплексы.

Плазмолемма обладает асимметрией, которая выражается в различиях состава липидов и белков наружной и внутренней частей. Асимметрия плазмолеммы проявляется у животных клеток, в частности, в том, что они имеют на своей внешней поверхности особый углеводный слой – гликокаликс. Он образован входящими в состав мембраны олигосахаридами и липидами в комплексе с белками. Гликокаликс присутствует у всех животных клеток, однако степень его развития может быть разной. В наибольшей степени он развит у всасывающих клеток кишечного эпителия. Гликокаликс этих клеток создает среду для пристеночного пищеварения, а также защищает плазмолемму от повреждений. Вирус гриппа содержит фермент нейраминидазу, который необходим для удаления одного из компонентов гликокаликса – сиаловой кислоты, препятствующей прикреплению вирусных частиц к плазмолемме эпителиальных клеток. Гликокаликс обладает выраженными антигенными свойствами, что облегчает опознание клеток при их взаимодействии между собой.

С внутренней стороны плазмолемма связана с такими компонентами цитоскелета, как микротрубочки и микрофиламенты. Это позволяет животной клетке не только поддерживать определенную форму, но и активно изменять ее. Взаимодействие плазмолеммы с цитоскелетом лежит в основе активного движения фибробластов и макрофагов, удлинения проходящих по капиллярам эритроцитов, изменения формы клетки при фагоцитозе и секреции.

Плазмолемма, отграничивая содержимое клетки от внешней среды, одновременно обеспечивает избирательный обмен веществ между клеткой и средой. Транспорт веществ через плазмолемму осуществляется при помощи различных механизмов (таблица 1).

Таблица 1 – Транспорт веществ через плазмолемму.

Пассивный	Активный
Диффузия: простая облегченная	Насосы: натрий-калиевый протонный кальциевый транспортер глюкозы Мембраноопосредованный: Эндоцитоз Экзоцитоз

Пассивный транспорт не требует затрат энергии. Путем простой диффузии через плазмолемму проходят молекулы кислорода, воды, углекислого газа и др. Он малоспецифичен и идет по градиенту концентрации соответствующего вещества. Облегченная диффузия обеспечивается каналами в плазмолемме и специальными белками-переносчиками – пермеазами.

Активный транспорт осуществляется с затратой энергии. Существуют две основные разновидности активного транспорта. Одна из них обеспечивается с помощью встроенных в плазмолемму молекулярных насосов, которые обладают высокой специфичностью, транспортируя только определенные виды молекул. К ним относятся натрий-калиевый, протонный и кальциевый насосы, а также транспортер глюкозы. Вторая разновидность активного транспорта связана с пространственными преобразованиями плазмолеммы и включает эндоцитоз, обеспечивающий транспорт макромолекул в клетку, и экзоцитоз, который осуществляет выведение веществ из клетки. Процессы эндоцитоза и экзоцитоза сбалансированы таким образом, что площадь поверхности плазмолеммы обычно остается постоянной.

Важная роль в клетке принадлежит встроенным в плазмолемму белкам-рецепторам. Их центры связывания располагаются на поверхности плазмолеммы, обеспечивая восприятие лигандов – молекулярных сигналов, посылаемых другими клетками. Связывание лиганда рецептором осуществляется обратимо на основе их пространственной комплементарности в соответствии с законом действующих масс. Все это определяет высокую чувствительность и избирательность межклеточных коммуникаций.

Рецепторы часто сопряжены с насосами, регулируя их активность. Например, пептидный гормон инсулин через специфический к нему рецептор регулирует активность транспортера глюкозы. Рецепторы образуют также комплексы с расположенными на цитоплазматической стороне плазмолеммы протеинкиназами – ферментами, которые фосфорилируют специфические белки и регулируют тем самым метаболизм в клетке. Многие из них через G-белки связаны с аденилатциклазой – ферментом, который активирует такие вторичные посредники как циклический АМФ и кальций. Увеличение концентрации вторичных посредников в цитоплазме, в свою очередь, приводит к активации клеток. Например, при повышении уровня циклического АМФ содержащиеся в крови нейтрофильные гранулоциты приобретают способность прикрепляться к стенкам сосудов и атаковать проникшие в организм бактерии.

В плазмолемму встроены особые трансмембранные белки – интегрины. Они участвуют в распознавании клеток друг другом, а также обеспечивают их взаимодействие с компонентами межклеточного вещества при формировании тканевых структур.

Таким образом, плазмолемма выполняет в клетке ряд функций. Наиболее важными из них являются:

- межмембранный транспорт молекул и надмолекулярных комплексов;
- межклеточные коммуникации;
- распознавание других клеток и образование клеточных комплексов;

- поддержание размеров и формы клетки, а также ее активное передвижение;
- распознавание компонентов межклеточного вещества и прикрепление к ним.

### 1.3. Везикулярная система клетки

#### 1.3.1. Плазматическая сеть

При исследовании эукариотической клетки с помощью электронного микроскопа в ее цитоплазме обнаруживаются каналцы и уплощенные цистерны, стенки которых образованы мембраной толщиной около 7 нм. В клетках, специализирующихся на синтезе большого количества белков или липидов, каналцы и цистерны особенно многочисленны и формируют сложную трехмерную сеть. Вот почему этот мембранный органоид получил наименование плазматическая сеть (эндоплазматический ретикулум). Мембраны плазматической сети разграничивают цитоплазму на два различных объема – гиалоплазму, которая находится снаружи от цистерн и каналцев, и межмембранное пространство.

Плазматическая сеть (ПС) выполняет ряд важных функций в клетке. Прежде всего, она является местом обновления мембран клетки, поскольку в ней синтезируются и встраиваются в существующие мембраны специфические для них белки и липиды (1). Мембраны ПС разграничивают пространство цитоплазмы, формируя трехмерные поверхности сложной формы (2). Эта функция ПС (компартаментализация) обеспечивает пространственную организацию метаболизма в клетке. Внутри каналцев ПС осуществляется транспорт и накопление вновь синтезированных веществ, которые необходимы для клетки, а также детоксикация метаболитов (3). На мембранах ПС происходит также синтез веществ, которые выводятся из клетки для нужд всего организма (4).

Различают две разновидности ПС – гладкую и гранулярную (шероховатую). Несмотря на структурно-функциональные различия, мембраны одной разновидности ПС могут непосредственно переходить в мембраны другой. Гладкая ПС состоит из переплетающихся каналцев и везикул небольшого диаметра. Она специализируется в основном на синтезе, транспорте и накоплении липидов. Гладкая ПС хорошо развита в клетках коры надпочечников, где участвует в синтезе стероидных гормонов, в клетках печени, обеспечивая детоксикацию метаболитов, в секреторных клетках растений. Особенно сильно гладкая ПС развита в мышечных волокнах скелетной мускулатуры, где она формирует L-систему, которая концентрирует ионы кальция с помощью встроенных в мембраны кальциевых насосов.

Гранулярная ПС отличается от гладкой тем, что на ее внешней поверхности, обращенной к гиалоплазме, находятся рибосомы. Она специализируется на синтезе, транспорте и посттрансляционной модификации белков. В отличие от свободных рибосом и полисом, синтезирующих водорастворимые белки гиалоплазмы, входящие в состав гранулярной ПС рибосомы синтезируют или мембранные белки, или секреторные белки, выводимые из клетки. Прикрепление рибосом к мембране ПС обеспечивается специальными внутримембранными

гликопротеидами – рибофоринами. Рибосомы прикрепляются к мембране большой субъединицей. При этом они ориентируются так, что ось, которая соединяет большую и малую субъединицы, проходит почти параллельно поверхности мембраны. Рибосома как бы лежит на боку, под небольшим углом к мембране ПС.

В самом начале синтеза мембранных и секреторных белков рибосомы не связаны с мембраной. В отличие от водорастворимых белков, синтезирующихся в гиалоплазме, мембранные и секреторные белки содержат на N-конце сигнальную последовательность из 15-30 аминокислотных остатков. Сигнальная последовательность захватывается небольшой рибонуклеопротеидной частицей, состоящей из РНК длиной 300 пар нуклеотидов и шести белков (сигнал узнающая частица, или SRP). После захвата N-конца синтез полипептида временно останавливается. Входящий в состав мембраны «причалный белок» связывает SRP, обеспечивая посадку рибосомы и погружение сигнальной последовательности в липидную фазу мембраны. После посадки рибосомы трансляция возобновляется, и полипептид появляется на внутренней стороне мембраны. Специальная пептидаза отщепляет сигнальную последовательность, после чего полипептид приобретает нативную конформацию и встраивается в мембрану или транспортируется по каналцам ПС в пластинчатый комплекс.

Гранулярная ПС хорошо развита в тех клетках, которые специализируются на синтезе и выделении большого количества белков. В таких случаях она формирует систему расположенных параллельно друг другу уплощенных цистерн, занимающую значительную часть цитоплазмы клетки. Примерами могут служить клетки печени, где на мембранах гранулярной ПС происходит синтез белков плазмы крови (альбуминов, фибриногена, глобулинов, белковых факторов свертывания крови), плазматические клетки – «фабрики антител», экзокринные клетки поджелудочной железы, синтезирующие ферменты для полостного пищеварения. Наибольшей сложности гранулярная плазматическая сеть достигает в полиплоидных клетках беспозвоночных и простейших.

### **1.3.2. Пластинчатый комплекс**

Пластинчатый комплекс (аппарат Гольджи) представляет собой специализированную часть мембранной системы клетки, которая выполняет интегративные функции по отношению к ПС и другим мембранным органоидам. Он состоит из диктиосом – стопок прилегающих друг к другу уплощенных цистерн, которые окружены одномембранными пузырьками различного размера и особой зоной гиалоплазмы. При наличии одной диктиосомы пластинчатый комплекс располагается всегда в определенном месте цитоплазмы около клеточного центра. Со стороны пластинчатого комплекса и клеточного центра в ядре обычно имеется инвагинация. В секреторных клетках животных, нейронах и некоторых растительных клетках пластинчатый комплекс может состоять из нескольких диктиосом.

Диктиосома содержит от 5 до 20 сильно уплощенных мембранных цистерн, связанных между собой по периферии сетью мембранных каналцев. Ее участок, состоящий из более тонких и коротких цистерн и обращенный внутрь цитоплазмы, называется проксимальным (ближним), а противоположный,

представленный более мощными цистернами с расширениями на концах, называется дистальным (дальним). Проксимальный участок диктиосомы связан с мембранами ПС. Дистальный участок окружен множеством везикул. Зона гиалоплазмы вокруг диктиосомы содержит полирибосомы, которые синтезируют специфические для пластинчатого комплекса структурные белки и ферменты. Цитохимическим маркером мембранных структур пластинчатого комплекса являются гликозилтрансферазы.

Сетчатая форма пластинчатого комплекса представляет собой систему из нескольких диктиосом, которые связаны мембранными канальцами. Эта форма органоида характерна для нейронов, где он был впервые описан К. Гольджи под названием «внутренний сетчатый аппарат» (1898). Диффузная форма пластинчатого комплекса, которая отличается отсутствием связи между диктиосомами, встречается у растительных клеток.

Пластинчатый комплекс обеспечивает в клетке ряд важных процессов. В цистернах диктиосом происходит синтез полисахаридов и ковалентная сшивка их с молекулами белков, поступающих сюда из ПС. Поэтому пластинчатый комплекс хорошо развит в клетках, специализирующихся на синтезе и выделении полисахаридов и гликопротеидов – протеогликанов, ферментов, гормонов, антител, рецепторов и т. д.

Наряду с обеспечением анаболических процессов в секреторных клетках пластинчатый комплекс принимает участие и в катаболических процессах, являясь местом образования лизосом и пероксисом. Особенно хорошо эта функция выражена у макрофагов – клеток, которые специализируются на фагоцитозе. Макрофаги способны опознавать молекулярные продукты чужих геномов, разрезать их на пептиды и представлять для более точного распознавания другим клеткам иммунной системы. Тем самым они запускают сложную цепь реакций, обеспечивающих защиту организма от бактериальной или вирусной инфекции. Макрофаги также способны утилизировать погибшие клетки своего организма.

Несмотря на своеобразие морфо-функциональной специализации пластинчатого комплекса в различных типах клеток, этот органоид выполняет ряд универсальных функций, которые связаны с процессингом и секрецией белков. Белки подвергаются первичной посттрансляционной модификации непосредственно после их синтеза рибосомами гранулярной ПС. Например, к лизосомальным гидролазам присоединяются олигосахаридные цепи, состоящие из N-ацетилгликозамина, маннозы и глюкозы. Затем модифицированные белки транспортируются по канальцам ПС в цистерны проксимального участка пластинчатого комплекса. В клетках экзокринной части поджелудочной железы и бокаловидных клетках кишечника новые молекулы появляются в диктиосоме через 30 мин после начала синтеза белка. По мере продвижения белков от проксимального конца диктиосомы к дистальному концу с помощью специальных ферментов происходит их вторичная модификация – отщепление глюкозы и части молекул маннозы и дополнительное гликозилирование, фосфорилирование и сульфатирование. При этом характер модификации различен для лизосомальных гидролаз, белков секреторных гранул и гликопротеидов плазмолеммы. Например,

к олигосахаридам секреторных гликопротеидов присоединяются галактоза и сиаловая кислота, тогда как олигосахариды лизосомальных гидролаз фосфорилируются.

В дистальном участке диктиосомы осуществляется пространственная сегрегация белков. Молекулярный механизм сегрегации основан на специфическом узнавании прикрепленных к белкам олигосахаридов встроенными в мембрану рецепторами. Опознание белков по олигосахаридным меткам происходит внутри цистерн диктиосомы. После накопления белка участки мембран отпочковываются, превращаясь в опущенные везикулы. Судьба содержащих белок опущенных везикул может быть различной. В случае лизосомальных белков опущенные везикулы теряют поверхностный белок клатрин и сливаются с эндосомами. Если же белок предназначен для выведения из клетки, возможны два сценария дальнейших событий. Первый из них, который характерен в основном для экзокринных желез, состоит в том, что опущенные везикулы сливаются между собой, формируя все более крупные вакуоли. По мере укрупнения вакуоли сдвигаются к плазматической мембране, сливаются с ней и выводят из клетки содержимое. Вторым сценарий связан с формированием секреторных гранул и часто наблюдается в клетках эндокринных желез. В этом случае переносимые опущенными везикулами секреторные белки концентрируются в вакуолях, которые постепенно превращаются в плотные секреторные гранулы. У многих клеток наблюдается специфичность размеров и формы секреторных гранул.

Опущенные везикулы могут также транспортировать гликопротеиды от пластинчатого комплекса к плазмолемме для их последующего экспонирования на поверхности клетки. Многие опущенные везикулы, которые встроились в мембраны эндосом или плазмолемму, могут в дальнейшем отщепляться и возвращаться в пластинчатый комплекс. Тем самым обеспечивается рециклизация мембран и связанных с ними лиганд-рецепторных комплексов.

Пластинчатый комплекс может также специализироваться на синтезе полисахаридов. Например, в пластинчатом комплексе фибробластов синтезируются гликозаминогликаны – полисахариды, образующие аморфный компонент межклеточного вещества соединительной ткани. Гликозаминогликаны составляют значительную часть муцинов – слизистых веществ, секретлируемых клетками животных и растений. Хорошо изученным примером таких клеток являются бокаловидные клетки кишечника. У растений в пластинчатом комплексе синтезируются гемицеллюлозы и пектины – полисахариды, входящие в состав клеточной стенки.

### **1.3.3. Вакуоли и сферосомы растительных клеток**

В растительных клетках имеются особые формы одномембранных органоидов, которые образуются из мембран ПС – вакуоли и сферосомы.

Вакуоли могут занимать значительную часть цитоплазмы растительной клетки. У зрелых клеток отдельные вакуоли сливаются в одну большую центральную вакуоль. Мембрана, отделяющая вакуоль от гиалоплазмы, называется тонопластом. Вакуоли выполняют ряд важных для растительной

клетки функций: поддерживают осмотическое давление, обеспечивают экскрецию метаболитов и накапливают запасные питательные вещества.

Сферосомы (микросомы) представляют собой одномембранные пузырьки, служащие в растительной клетке местом накопления липидов и белков.

#### **1.3.4. Пероксисомы**

Пероксисомы (микротельца, глиоксисомы) представляют собой одномембранные вакуоли диаметром 300-1500 нм. Они имеют гранулярный матрикс, в центре которого располагаются состоящие из фибриллярного материала псевдокристаллические структуры. Пероксисомы присутствуют в клетках простейших и специализированных клетках растений и животных. Особенно много пероксисом содержится в клетках печени, где они участвуют в метаболизме перекиси водорода. Пероксисомы печени локализованы вблизи ПС и содержат набор ферментов, участвующих в метаболизме перекиси водорода – каталазу, уратоксидазу и т. п. Пероксисомы растений и животных могут также содержать ферменты катаболизма пуринов и глиоксалатного цикла. У растений пероксисомы часто взаимодействуют с митохондриями и пластидами. Происхождение пероксисом и роль их в клетках изучены недостаточно. Обращают на себя внимание высокие темпы обновления этого органоида, механизм которого неизвестен.

#### **1.3.5. Лизосомы**

Лизосомы представляют собой пузырьки диаметром от 100 нм до нескольких микрометров, которые обнаруживаются в цитоплазме клеток простейших, растений и животных. Они содержат широкий набор гидролитических ферментов, способных расщеплять любые биогенные вещества – белки, нуклеиновые кислоты, углеводы и липиды. Состав и количество лизосомальных гидролаз обладает видовой и тканевой специфичностью. Морфологически лизосомы неоднородны и претерпевают различные изменения при слиянии с другими органоидами. Для идентификации лизосом используется реакция на кислую фосфатазу.

Если приготовить гомогенат клеток печени и определить в нем активность кислой фосфатазы, то она окажется низкой. При обработке гомогената ультразвуком либо повторяющимися циклами замораживания-оттаивания активность фермента резко повышается. Объясняется это тем, что при обработке гомогената нарушается целостность мембран, гидролазы выходят из лизосом и активируются. Следовательно, гидролазы находятся в лизосомах в неактивном, латентном состоянии. Изучение явления латентности гидролаз и привело бельгийского биохимика К. де Дюва к открытию лизосом (1955).

Латентность лизосомальных гидролаз обусловлена рядом факторов. Прежде всего, она объясняется наличием мембраны, которая препятствует взаимодействию ферментов с субстратами. Часть гидролаз встроено в мембрану и блокировано за счет связи с липидами. Другая часть ферментов инактивирована углеводами мембраны и матрикса. Кроме того, внутренняя среда лизосомы сильно закислена, тогда как максимальная активность гидролаз проявляется в слабо кислой среде.

Лизосомальная мембрана способна удерживать в органоиде не только ферменты, но и макромолекулярные субстраты. Низкомолекулярные продукты распада (свободные аминокислоты, сахара, нуклеотиды) выходят из лизосомы в гиалоплазму с помощью встроенных в мембрану специальных транспортных белков.

Морфологически лизосомы подразделяют на четыре типа – первичные лизосомы, вторичные лизосомы, аутофагосомы и остаточные тельца. Первичные лизосомы образуются в пластинчатом комплексе в виде одномембранных пузырьков с бесструктурным содержимым. Они служат для временного хранения и инактивации гидролаз. Первичные лизосомы способны перемещаться в цитоплазме с помощью микротрубочек, а также сливаться с эндосомами и плазмолеммой. Диаметр их составляет 100–500 нм.

Вторичные лизосомы (фаголизосомы, пищеварительные вакуоли) образуются в результате слияния первичных лизосом с фагоцитарными или пиноцитозными вакуолями. При этом наблюдается активация лизосомальных гидролаз, распад поступивших в клетку веществ и выведение низкомолекулярных веществ в гиалоплазму для включения в метаболические процессы клетки. Морфологически вторичные лизосомы отличаются от первичных лизосом более крупными размерами и наличием фагоцитируемого материала.

Аутолизосомы морфологически почти идентичны вторичным лизосомам, отличаясь только тем, что содержат внутри митохондрии, пластиды, рибосомы, включения и другие органоиды клетки или их фрагменты. Поэтому они рассматриваются как специальные органоиды, обеспечивающие аутофагоцитоз. Это явление наблюдается в клетках растений и животных, например, при физиологической регенерации внутриклеточных структур и гидролизе запасных питательных веществ.

Остаточные тельца (телолизосомы) представляют собой лизосомы с уплотненным структурированным материалом. Они содержат меньше гидролаз и служат местом накопления липидов, пигментов и других продуктов метаболизма.

Лизосомы представляют особый тип мембранного органоида, который осуществляет в клетке процессы распада. В специализированных клетках лизосомы могут обеспечивать внутриклеточное пищеварение, защиту от микроорганизмов и их продуктов, реконструкцию клетки. При осуществлении этих функций лизосомы взаимодействуют с другими мембранными органоидами – ПС, пластинчатым комплексом, эндосомами, включениями и плазмолеммой. Функция внутриклеточного пищеварения, которое осуществляется с помощью лизосом, особенно выражена у простейших и беспозвоночных. Пищеварительные клетки имеются, например, в кишечном эпителии у моллюсков и клещей. Они содержат стабильные пиноцитозные вакуоли, которые постоянно снабжаются лизосомальными ферментами.

Защитная роль клеток-фагоцитов была обнаружена И. И. Мечниковым у беспозвоночных еще в конце XIX в. У позвоночных он описал два типа фагоцитов: микрофаги и макрофаги. В цитоплазме микрофагов содержится большое количество упакованных в мембрану гранул, которые представляют собой не что иное, как разновидность первичных лизосом. При активации клетки

из них выходят гидролазы, которые разрушают внеклеточные субстраты. Микрофаги также способны к ограниченному фагоцитозу бактериальных клеток. К микрофагам у млекопитающих относятся нейтрофильные гранулоциты крови, которые обеспечивают защиту организма от бактерий. Макрофаги отличаются крупными размерами, способностью к амебоидному движению и активному фагоцитозу. Они содержат интенсивно функционирующие вторичные лизосомы, которые, кроме полного разрушения поступающих извне веществ, участвуют также в частичном протеолизе белковых антигенов для их последующего представления другим иммунокомпетентным клеткам. У млекопитающих к макрофагам относятся моноциты крови, которые после выхода из капилляров превращаются в гистиоциты соединительной ткани, альвеолярные и перитонеальные макрофаги, остеокласты костной ткани, клетки Купфера в печени и другие формы тканевых макрофагов.

Реконструктивная функция лизосом широко распространена как у животных, так и у растений. Она заключается в ограниченной аутофагии цитоплазматических структур для регуляции обмена веществ, развития тканей и органов, а также в условиях недостатка энергии и питательных веществ. Примерами могут служить гидролиз запасных питательных веществ при прорастании семян, частичный протеолиз тироглобулина эпителиальными клетками щитовидной железы с образованием гормонов трийодтиронина и тироксина, разрушение межклеточных контактов при физиологической регенерации ороговевающего эпителия. Особенно отчетливо эта функция лизосом проявляется в разрушении ими цитоплазматических структур в условиях голодания (эндогенное питание).

Значение лизосом для нормального функционирования организма человека подчеркивается существованием «болезней накопления», которые обусловлены мутациями, полностью или частично нарушающими работу лизосомальных гидролаз. В результате в лизосомах наблюдается избыточное накопление соответствующих субстратов, что приводит к изменению размеров, формы и тонкой структуры этого органоида. При болезни Уолмена, например, отсутствует кислая липаза, что приводит к накоплению в лизосомах эфиров холестерина и триглицеридов и формированию липидных включений. Болезнь Помпа связана с недостатком гликозидазы, что вызывает накопление гликогена. Особенно тяжелым заболеванием является псевдохерлерова дистрофия, при которой в фибробластах отсутствуют почти все лизосомальные ферменты, кроме протеаз. В результате блокируется обмен таких компонентов соединительных тканей как протеогликаны и сложные липиды.

### **1.3.6. Секреторные везикулы и гранулы**

Этот тип одномембранных органоидов связан с экзоцитозом – синтезом и выделением веществ из клетки. Различают две разновидности экзоцитоза: секрецию и экскрецию. Под секрецией понимают выделение клеткой синтезированных ею продуктов – простых и сложных белков, липидов, углеводов, биогенных аминов и т. п. При экскреции из клетки во внешнюю среду выделяются продукты распада.

В секретиции принимают участие многие компоненты мембранной системы клетки – ПС, пластинчатый комплекс, опушенные везикулы и др. Синтез секретируемых веществ осуществляется мембранами ПС. Затем они транспортируются в пластинчатый комплекс, где подвергаются модификациям и концентрируются в везикулах, которые отщепляются от мембран диктиосомы. В зависимости от химической природы секретируемого вещества и способа его упаковки везикулы превращаются в секреторные вакуоли или гранулы. Размеры секреторных пузырьков варьируют в широких пределах: от 20 нм у клеток аденогипофиза, секретирующих тиротропный гормон, до 600 нм у бокаловидных клеток кишечника, секретирующих слизь.

### **1.3.7. Эндосомы**

Эндосомы являются одномембранными органоидами, которые обеспечивают эндоцитоз – транспорт биогенных макромолекул и их комплексов от плазматической мембраны внутрь клетки. Существуют три разновидности эндоцитоза – фагоцитоз, пиноцитоз и специфический эндоцитоз, каждой из которых соответствует свой вариант эндосомы – фагосома, пиносома и опушенная везикула. Все эндосомы являются производными плазматической мембраны клетки и функционируют при эндоцитозе сходным образом.

Фагоцитоз рассматривают как поглощение клеткой твердых веществ, которые в дальнейшем транспортируются в цитоплазму фагосомой и после слияния ее с лизосомами распадаются в фаголизосомах (пищеварительных вакуолях, или фагосомах). Фагосомы – наиболее крупные из эндосом, они достигают размеров нескольких микрометров.

Пиноцитоз состоит в захвате клеткой мелких капель воды с растворенными в ней веществами. Пиноцитоз обеспечивается пиносомой, она отличается от фагосомы меньшими размерами (0,3-0,6 мкм). Пиносома аналогично фагосоме переносит поглощенные вещества до встречи с лизосомой.

Специфический эндоцитоз представляет собой поглощение клеткой молекулярных комплексов «лиганд-рецептор» и транспорт их в пластинчатый комплекс, другой участок плазматической мембраны или к лизосомам. Он обеспечивается особым типом эндосом – опушенными везикулами диаметром 20 нм. Их название отражает то, что с наружной стороны этих эндосом выступают равномерно встроенные в мембрану молекулы белка клатрина. Первичным местом образования опушенных везикул является пластинчатый комплекс. Последующее встраивание опушенных везикул в плазматическую мембрану приводит к формированию особых ее участков – окаймленных ямок. При этом слой клатрина оказывается на внутренней стороне плазмолеммы, а на ее внешней стороне экспонируются молекулы белков-рецепторов. Избирательное связывание ими специфических молекулярных сигналов – лигандов, вызывает отщепление окаймленной ямки от плазмолеммы и вторичное образование опушенной везикулы, внутри которой будут находиться комплексы «лиганд-рецептор».

## 1.4. Митохондрии и пластиды

Митохондрии и пластиды в отличие от других цитоплазматических органоидов эукариотической клетки имеют две мембраны, ДНК и белоксинтезирующую систему. В митохондриях происходит синтез АТФ, тогда как основная форма пластид – хлоропласты – обеспечивает фотосинтез.

### 1.4.1. Митохондрии

Этот органоид был впервые обнаружен в мышцах насекомых Р. Келликером еще в 1850 г. Однако вплоть до 90 гг. XIX в. саркосомы (как тогда называли митохондрии) считали органоидом, характерным только для мышечной ткани. В 1890 г. Р. Альтманн подробно исследовал этот органоид под именем «биобласт» в различных клетках, используя специфический для него краситель фуксин. В 1898 г. К. Бенда, изучая сперматогенез, обнаружил в клетках окрашивающиеся кристаллическим фиолетовым нити, которые он назвал митохондриями (от греч. *mitos* – нить).

Наблюдавшаяся Р. Альтманном автономность митохондрий и их способность к делению, а также открытое в начале XX в. явление цитоплазматической наследственности дали основание считать, что этот органоид способен к самовоспроизведению и содержит цитоплазматические гены. Синтез АТФ в мышцах был обнаружен русским ученым В. А. Энгельгардтом в 1930 г. То, что образование основного количества АТФ происходит именно в митохондриях, было окончательно доказано в 1949 г. А. Ленинджером.

Митохондрии присутствуют в клетках у всех эукариот. Они отличаются значительной вариабельностью размеров, формы и количества в клетке. В соматических клетках млекопитающих число митохондрий может достигать нескольких сотен, их размеры варьируют от 1 до 10 мкм.

Митохондрии располагаются в клетке в тех местах, где расходуется много энергии. Например, в сперматозоидах они выстраиваются вдоль жгутика, в мышечных волокнах локализуются рядом с миофибриллами, в эпителии почечных канальцев концентрируются в базальной части клеток у плазмолеммы, где интенсивно работают мембранные насосы.

#### *Ультроструктура митохондрий*

Несмотря на большую изменчивость размеров и формы тонкая структура митохондрий однотипна у всех организмов. Они состоят из наружной и внутренней мембран толщиной по 7 нм, межмембранного пространства шириной 10–20 нм и митохондриального матрикса (митоплазмы).

Наружная и внутренняя мембраны митохондрий значительно различаются по физическим свойствам. При изменении осмотического давления наружная мембрана способна только расширяться, в то время как внутренняя мембрана может и расширяться, и сжиматься. Наружная мембрана отличается также неспецифической проницаемостью, тогда как внутренняя специфична в отношении активного транспорта веществ. Наружная мембрана митохондрий обладает большим сходством с мембранами плазматической сети.

Мембраны митохондрии отличаются и по химическому составу. В наружной мембране содержится менее 20 % белка, а во внутренней его около 75 %.

Содержание белка во внутренней мембране столь высоко, что в ней местами нарушается типичное для биомембран взаимное расположение липидов и белков, причем липиды не образуют бимолекулярного слоя, локализуясь на поверхности. Липиды внутренней мембраны отличаются высоким содержанием насыщенных жирных кислот и холестерина.

Внутренняя мембрана митохондрий способна формировать многочисленные инвагинации внутрь матрикса – кристы. Ориентация крист по отношению к центральной оси митохондрии может быть различной. Наиболее часто встречается поперечная ориентация крист. Она характерна, например, для клеток печени и почек. В клетках сердечной мышцы, однако, кристы ориентированы вдоль оси митохондрий. В некоторых клетках кристы могут располагаться без определенной ориентации, их концы могут формировать дополнительные выросты. Мелкие митохондрии имеют шаровидную форму, их немногочисленные кристы ориентированы радиально.

На внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрии обнаруживаются многочисленные грибовидные тельца. Они имеют головку диаметром 8 нм и прикреплены к мембране ножкой. Грибовидные тельца равномерно покрывают поверхность крист, причем расстояние между соседними структурами составляет около 10 нм. Головки грибовидных телец состоят из 5 различных белковых субъединиц и проявляют АТФ-азную активность. Ножка грибовидных телец является встроенным в мембрану протонным каналом. Полный супрамолекулярный комплекс грибовидных телец, включающий как головку, так и ножку, обладает АТФ-синтетазной активностью. Развитие системы крист приводит к увеличению поверхности внутренней митохондриальной мембраны, росту числа грибовидных телец и усилению энергетической функции митохондрии.

Матрикс митохондрий на малом увеличении электронного микроскопа (до 10 000х) выглядит однородным. При большем увеличении в нем обнаруживаются фибриллы диаметром около 2 нм, мелкие гранулы величиной 15–20 нм и более крупные гранулы величиной 20–40 нм. Фибриллы матрикса идентифицированы как молекулы митохондриальной ДНК. Мелкие гранулы представляют собой митохондриальные рибосомы. У млекопитающих они относятся к 55S-рибосомам (минирибосомам). Крупные гранулы состоят из отложений солей кальция и магния.

### ***Функции митохондрий***

Основной функцией митохондрий является окислительное фосфорилирование – запасание энергии, которая выделяется при окислении органического субстрата, в макроэргические связи молекул АТФ.

Начальные этапы получения энергии клеткой происходят в гиалоплазме без участия кислорода в ходе частичного расщепления углеводов – гликолиза. В результате гликолиза молекула глюкозы распадается до триоз с выделением 2 молекул АТФ. Если в клетке отсутствуют митохондрии (как, например, на ранних стадиях эмбриогенеза), она получает всю необходимую ей энергию путем гликолиза.

Образуемая в ходе гликолиза пировиноградная кислота поступает в митохондрии, где под воздействием кислорода подвергается полному расщеплению с выделением углекислого газа, воды и 36 молекул АТФ. Энергетическая эффективность гликолиза и окислительного фосфорилирования примерно равна, составляя около 40 %.

Высокий энергетический выход окислительного фосфорилирования объясняется тем, что полное окисление субстрата в митохондриях осуществляется кислородом постепенно, без значительной тепловой деградации энергии. Это достигается согласованной работой окислительных ферментов цикла Кребса, белков цепи переноса электронов и АТФ-синтетаз.

Ферменты цикла Кребса (цикла трикарбоновых кислот, цикла лимонной кислоты) локализованы в митохондриальном матриксе. Они обеспечивают окисление субстрата, перенос свободных электронов на кофермент никотинамидадениндинуклотид (НАД) и выделение углекислого газа. Электроны передаются затем в дыхательную цепь, которая состоит из сукцинатдегидрогеназы (СДГ), НАД-дегидрогеназы (НАД-ДГ), убихинона (кофермента Q), а также цитохромов b, c1, c, a и a3. Большинство компонентов дыхательной цепи локализуется на внешней стороне внутренней мембраны. Они последовательно осуществляют окислительно-восстановительные реакции с участием гема, причем цитохромы транспортируют электроны от одного иона железа к другому с помощью белков, содержащих негеминное железо и медь.

Согласно хемоосмотической теории окислительного фосфорилирования (П. Митчел, 1961), ферменты – переносчики электронов – связаны в мембране с протонными насосами, которые захватывают протоны, накапливающиеся в матриксе при окислительно-восстановительных реакциях, и перебрасывают их в межмембранное пространство. В результате межмембранное пространство закисляется, тогда как матрикс, наоборот, защелачивается, а на внутренней митохондриальной мембране возникает электрический потенциал. Этот потенциал используется грибовидными тельцами для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата. По протонному каналу в ножке грибовидного тельца протоны из межмембранного пространства возвращаются в матрикс. Таким образом, грибовидные тельца митохондрий являются теми структурами, которые обеспечивают сопряжение окисления с фосфорилированием у эукариот.

Кроме синтеза АТФ митохондрии могут выполнять и другие функции. Например, в клетках коры надпочечников митохондрии участвуют в синтезе стероидных гормонов, а в лейкоцитах морских млекопитающих запасают углеводы. Необходимо отметить высокую пластичность митохондрий, которые могут в широких пределах адаптироваться к потребностям клетки, принимая на себя функции других органоидов.

### ***Размножение митохондрий***

Митохондрии размножаются тремя способами: делением перетяжкой, почкованием наружу и почкованием внутрь. Делению митохондрии предшествует репликация митохондриальной ДНК. Она представляет собой двухцепочечную кольцевую молекулу массой от 10 до 40 мД. В одной митохондрии может быть до 10 молекул ДНК. Митохондриальная ДНК по химическому составу, плавучей

плотности и другим характеристикам ближе к ДНК прокариот. В частности, она почти полностью лишена регуляторных и высокоповторяющихся последовательностей, кодируя главным образом структурные гены. Размеры митохондриального генома позволяют закодировать не более 100 белков. Это намного меньше, чем размер генома у бактерий (порядка 1000 мД), который обеспечивает кодирование до 3000 различных белков.

Митохондрии обладают также своей собственной белоксинтезирующей системой прокариотического типа, включая рибосомы, тРНК и аминоацил-тРНК-синтетазы. Рибосомы митохондрий высших растений имеют константу седиментации 70S, рибосомы митохондрий грибов – 75S, рибосомы митохондрий млекопитающих – 55S. Это свидетельствует о значительной видовой специфичности митохондриальных рибосом по сравнению с цитоплазматическими рибосомами. Тем не менее, рибосомы митохондрий толерантны к матрице и могут транслировать иРНК любого происхождения.

Гены митохондриального генома кодируют ряд белков, входящих в состав внутренней мембраны митохондрии, в том числе 4 из 10 субъединиц грибовидного тельца, а также некоторые субъединицы ферментов и цитохромов дыхательной цепи. Однако подавляющее большинство белков в митохондриях кодируется генами клеточного ядра. Более того, ключевые ферменты транскрипции, рибосомальные и регуляторные белки также кодируются ядерной ДНК, что свидетельствует о высокой степени интеграции ядерного и митохондриального геномов.

### ***Гипотезы происхождения митохондрий***

Автономность митохондрий послужила основанием для симбиотической гипотезы их происхождения в филогенезе. Впервые она была выдвинута одним из первых исследователей этого органоида Р. Альтманном еще в 1890 г. Эта гипотеза постулирует, что эволюционная предшественница эукариотической клетки могла включить в себя эндосимбионт бактериальной природы, который обладал способностью к дыханию. В пользу этой гипотезы свидетельствует сходство геномов бактерий и митохондрий, сходный способ их размножения, сходство белоксинтезирующих систем, чувствительность рибосом бактерий и митохондрий к одним и тем же антибиотикам.

Однако целый ряд фактов противоречит симбиотической гипотезе. В частности, геном митохондрий намного меньше генома бактерий, рибосомы отличаются от рибосом эукариот и прокариот, иРНК ближе к эукариотическому типу, генетический код имеет уникальные особенности. Поэтому как альтернатива симбиотической гипотезе была выдвинута плазмидная гипотеза происхождения митохондрий.

Плазмиды представляют собой молекулы ДНК, которые способны автономно реплицироваться и экспрессироваться в бактериальной клетке, а также встраиваться в их кольцевую ДНК и реплицироваться и экспрессироваться совместно с ней. Плазмиды часто захватывают гены бактериальной ДНК и переносят их от одних клеток к другим в результате характерного для бактерий парасексуального процесса - конъюгации. Согласно плазмидной гипотезе предшественницы эукариотических клеток могли встраивать кодируемые

геномом дыхательные ферменты в плазмолемму. В ходе дальнейшей эволюции имели место два противоположно направленных процесса: специализированные участки плазмолеммы с дыхательными ферментами инвагинировали в цитоплазму, и одновременно включали в себя с помощью плазмид те гены, продукты которых было выгодно синтезировать на месте. После образования наружной мембраны митохондрии окончательно приобрели нынешнюю автономность.

#### **1.4.2. Пластиды**

Пластиды – это двумембранные органоиды, которые характерны для растительных клеток. Они были открыты А. Левенгуком в 1676 г. У высших растений имеется несколько типов пластид, отличающихся составом пигментов, структурой и функциями - хлоропласты, лейкопласты, амилопласты и хромопласты. Кроме высших растений пластиды обнаружены также у некоторых водорослей и простейших. Количество пластид в клетке может колебаться от нескольких десятков до сотен. В среднем клетка высших растений содержит около 30 пластид. На самом деле все пластиды являются разновидностями одного органоида – хлоропласта.

##### ***Структура хлоропластов***

Хлоропласты высших растений представляют собой тельца овальной формы шириной 2–4 мкм и длиной 4–10 мкм. Они имеют две мембраны толщиной по 7 нм с межмембранным пространством шириной около 30 нм. Как и у митохондрий, наружная и внутренняя мембраны хлоропласта отличаются проницаемостью и другими физико-химическими свойствами.

Внутренняя мембрана хлоропластов образует протяженные складки – ламеллы. На ламеллах располагаются плоские мембранные цистерны дисковидной формы – тилакоиды, имеющие полость шириной 20–30 нм. Они собраны в комплексы наподобие столбика монет – граны. Тилакоиды уложены в гране таким образом, что между соседними мембранами остается пространство шириной 2 нм. Число тилакоидов в гране может достигать нескольких десятков.

Внутри хлоропласта между мембранными структурами содержится мелкодисперсное вещество, формирующее матрикс, или строму. У некоторых хлоропластов и других пластид в строме обнаруживаются включения – пластоглобулы, крахмальные зерна и кристаллы белка.

В хлоропластах осуществляется фотосинтез, в результате которого из углекислого газа и воды с использованием энергии света образуется органическое вещество и выделяется кислород. Процесс фотосинтеза подразделяется на световую и темновую фазы.

Световая фаза фотосинтеза идет в мембранах тилакоидов с участием зеленого пигмента хлорофилла, который поглощает кванты света и запускает гидролиз воды (реакция Хилла). Образованные при фотолизе воды электроны передаются по цепи транспорта электронов, сопряженной с протонными насосами и АТФ-синтетазами.

Для более полного использования энергии света в хлоропластах имеются фотосистемы I и II, настроенные на длинноволновую и коротковолновую области спектра. Один реакционный центр фотосистем содержит около 300 молекул

хлорофилла. Фотосистема II обеспечивает фотолиз воды и высвобождение из нее электронов и протонов, тогда как фотосистема I отвечает за восстановление акцепторной молекулы никотинамидадениндинуклеотид-фосфата (НАДФ). В транспорте электронов, который организован наподобие дыхательной цепи митохондрий, принимают участие цитохромы  $b_6$ ,  $b$  и  $f$ , медьсодержащий белок пластоциан, аналоги цитохромов – ферродоксины и аналоги убихинона – пластохинон и филлохинон (витамин  $K_1$ ).

Хлорофилл, а также почти все другие компоненты фотосистем I и II, локализованы в мембранах тилакоидов в составе особых частиц – квантосом диаметром около 16 нм. На внутренней поверхности мембраны тилакоидов имеются многочисленные регулярно расположенные выступы высотой 10 нм, которые обладают АТФ-синтетазной активностью. На свету в полостях тилакоидов накапливаются протоны, а строма хлоропласта защелачивается. Таким образом, световая фаза фотосинтеза осуществляется в тилакоидах надмолекулярными комплексами наподобие грибовидных телец митохондрий.

Темновая фаза фотосинтеза идет в строме хлоропласта. Она заключается в фиксации углекислого газа и синтезе углеводов с использованием полученных в световой фазе молекул АТФ и восстановленного НАДФ. Синтез углеводов в строме хлоропласта обеспечивается многоступенчатой ферментативной системой цикла Кальвина, в котором ведущая роль в фиксации углерода принадлежит рибулезодифосфату. В результате химических превращений рибулезодифосфата из шести молекул  $CO_2$  образуется одна молекула фруктозо-6-фосфата. В дальнейшем фруктозо-6-фосфат дает начало другим сахарам, крахмалу, гликолипидам. Промежуточные продукты цикла Кальвина могут участвовать также в синтезе жирных кислот и аминокислот.

Хлоропласты обладают ДНК и рибосомами, которые локализованы в строме. ДНК хлоропластов представлена кольцевыми молекулами массой 80–130 мД. В одном органоиде может содержаться до 40 копий ДНК. Геном хлоропластов содержит около 120 структурных генов, которые кодируют рибосомальные и транспортные РНК, 20 рибосомальных белков, 9 из 12 субъединиц АТФ-синтетазы, часть белков фотосистем и цепи транспорта электронов. Однако, как и у митохондрий, большинство белков хлоропластов кодируется генами клеточного ядра. Белоксинтезирующая система у хлоропластов прокариотического типа с 70S рибосомами. Высокая степень автономности хлоропластов была отмечена еще русским ботаником К. Мережковским в 1905 г.

### ***Размножение и превращения пластид***

Зрелые хлоропласты высших растений делятся редко. Размножение хлоропластов и других пластид происходит в основном на уровне их предшественников – пропластид, которые представляют собой двумембранные пузырьки диаметром 1 мкм. Они содержатся в молодых камбиальных тканях и способны делиться перетяжкой или почкованием.

Если растение развивается в условиях нормального освещения, пропластиды дифференцируются непосредственно в хлоропласты. В темноте пропластиды увеличиваются в размерах, но вместо ламелл и тилакоидов в них образуются многочисленные мелкие пузырьки и их комплексы (проламеллярные тела).

Образованные в этом случае бесцветные пластиды называются лейкопластами (этиопластами). На свету они способны превращаться в полноценные хлоропласты. В строме лейкопластов часто откладываются запасные питательные вещества, в особенности крахмал. В таких тканях как эндосперм злаков при накоплении большого числа крахмальных зерен в строме пропластиды и лейкопласты дифференцируются в амилопласты. Хлоропласты, лейкопласты и амилопласты могут необратимо превращаться в окрашенные в желто-красные цвета хромопласты. При этом мембранные структуры органоида деградируют, хлорофилл и крахмал исчезают, а в строме образуются пластоглобулы - липидные капли с растворенными в них пигментами – каротиноидами.

## **1.5. Цитоскелет**

Цитоскелет – это система внутриклеточных компонентов, которые формируют структурную основу клетки. С биохимической точки зрения цитоскелет – это те белковые структуры, которые остаются в клетке после обработки ее неионными детергентами типа твина или нонидета. С цитологической точки зрения цитоскелет представляет собой разнообразный фибриллярный материал, который выявляется в гиалоплазме в световом и электронном микроскопе. Функции цитоскелета достаточно разнообразны и заключаются в поддержании размеров и формы клеток и внутриклеточных структур, перемещении органоидов, сокращении и активном движении клеток.

Прямое доказательство существования цитоскелета у эукариотических клеток было получено в середине 70 гг. XX в. с помощью иммуноцитохимического выявления актина – одного из белков, обеспечивающих движение клеток. Однако некоторые органоиды, представляющие собой специализированные производные цитоскелета, были известны цитологам и ранее. Например, клеточный центр был впервые обнаружен Е. Бенеденом и Т. Бовери в митотически делящихся клетках еще в конце 70 гг. XIX в. В 1891 г. В. Флемминг и М. Гейденгайн показали, что клеточный центр имеется также и у неделящихся клеток, являясь универсальным клеточным органоидом.

Все компоненты цитоскелета состоят из специфических белков, которые способны формировать высокодинамичные супрамолекулярные структуры. Хотя в живой клетке цитоскелет представляет собой единую систему, его компоненты можно разделить на микрофиламенты, микротрубочки, промежуточные филаменты и микротрабекулярную сеть.

### **1.5.1. Микрофиламенты**

Микрофиламенты (актиновые нити) обнаружены как у животных, так и у растений. Главный белок микрофиламентов – актин может находиться в двух формах: глобулярной (G-актин) и фибриллярной (F-актин). Глобулярный актин (молекулярная масса 42 кД) имеет участки связывания двухвалентных катионов и нуклеотидов. В физиологических условиях они заняты магнием и АТФ. Мономеры актина могут соединяться друг с другом, образуя димеры и тримеры, но только тримеры достаточно устойчивы, чтобы быть затравками для дальнейшей полимеризации в F-актин. В полимеризации участвуют оба конца, но

скорость их роста различна. Более быстро растущий конец актиновой нити обозначается знаком «+», а медленно растущий знаком «-». Полимеризация сопровождается гидролизом АТФ, но происходит также и в присутствии негидролизуемых аналогов АТФ.

В результате полимеризации образуется микрофибрилла толщиной около 6 нм, которая состоит из двух скрученных между собой спиральных лент мономеров. Такая структура находится в динамическом равновесии со свободными мономерами актина, что определяет высокие темпы ассоциации и диссоциации микрофиламентов и их чувствительность к температуре, концентрации двухвалентных ионов и АТФ. В полимеризации актина и стабилизации структуры микрофиламентов участвуют также специальные, связывающие актин белки.

Обратимую деполимеризацию микрофиламентов можно вызвать цитохалазинами В и D из плесневых грибов, которые подавляют элонгацию актина на быстрорастущем конце наподобие гельзолина, фрагмина или виллина. Актин-связывающие белки, регулируя процессы полимеризации и деполимеризации актиновых нитей, регулируют перестройки микрофиламентов при изменении размеров и формы клеток. Например, в эритроцитах имеется тонкая сеть из актина, спектрина и анкирина, связанная с интегральными белками плазмолеммы. Когда эритроцит проходит через капилляр с малым диаметром, актиновые микрофиламенты вызывают удлинение клетки.

Другой пример функции актина относится к эпителиальным клеткам. Многие из них, в том числе и всасывающие клетки кишечника, имеют на своей апикальной поверхности многочисленные микроворсинки, которые увеличивают площадь обмена между клеткой и средой. Микроворсинка представляет собой вырост плазмолеммы эпителиальной клетки высотой 1 мкм и диаметром около 100 нм. Внутри микроворсинки имеется пучок из 30 актиновых микрофиламентов толщиной по 7 нм. На вершине микроворсинки микрофиламенты прикреплены к плазмолемме с помощью  $\alpha$ -актинина, а противоположный конец пучка микрофиламентов вплетен в сеть из спектрина. Между актиновыми микрофиламентами располагаются поперечные сшивки из фимбрина и фасцина. Микроворсинки содержат механохимический белок минимиозин, молекулы которого связывают микрофиламенты с плазмолеммой или с поперечными сшивками. При взаимодействии актина с минимиозином микроворсинки могут изменять свою высоту, что обеспечивает регуляцию площади поверхности обмена клетки со средой.

Микрофиламенты способны не только изменять форму клетки или отдельных ее частей. Актин-миозиновые комплексы фибробластов в соединительной ткани отвечают за активное передвижение клеток. Когда фибробласт ползет по поверхности, на его переднем по ходу движения конце периодически возникают и исчезают тонкие пластинчатые выросты – ламеллоподии. Одновременно с формированием ламеллоподий в клетке происходит перестройка актиновых филаментов, которые концентрируются в эктоплазме (слое гиалоплазмы под плазмолеммой) и пучках, соединяющих передний край с центральной частью клетки. Внутриклеточные пучки актиновых нитей (фибриллы натяжения, или

фибриллы стресса) участвуют в закреплении фибробласта на коллагеновых волокнах межклеточного вещества соединительной ткани.

Актин и другие белки микрофиламентов обладают тканевой и видовой специфичностью. Однако все формы актина млекопитающих отличаются между собой только концевыми участками, которые влияют главным образом на параметры сборки микрофиламентов. Актин обнаружен также в клетках растений, где он формирует пучки, связанные с плазмолеммой. Эти пучки участвуют в токе цитоплазмы растительной клетки.

Наибольшей сложности актино-миозиновые комплексы достигают в миофибриллах – специализированных органоидах, обеспечивающих сокращение мышечных волокон в скелетной мускулатуре. Они обладают поперечной исчерченностью, что является признаком высокой степени регулярности их супрамолекулярной организации.

### **1.5.2. Промежуточные филаменты**

Промежуточные филаменты названы так потому, что их диаметр составляет около 10 нм, что является промежуточной величиной между диаметром микрофиламентов (6 нм) и микротрубочек (25 нм). В отличие от микрофиламентов и микротрубочек они являются не молекулярными полимерами, а поликонденсатами фибриллярных мономеров. Промежуточные филаменты обнаружены во всех клетках животных, но особенно много их в покровном эпителии, нервной и мышечных тканях.

В центральной части молекулы белков промежуточных филаментов содержится одинаковая аминокислотная последовательность из 130 остатков, формирующая  $\alpha$ -спираль. Тем не менее, эти белки обладают выраженной тканевой специфичностью, которая определяется концевыми участками их молекул. Сборка филаментов происходит путем упорядоченной конденсации  $\alpha$ -спиральных структур.

Белки промежуточных филаментов принадлежат к одной из четырех различных групп – кератинам, белкам мезенхимных клеток, белкам нейрофибрилл и ламинам.

Кератины представляют собой семейство фибриллярных белков с молекулярной массой 40-70 кД, специфичных для эпителиальных клеток. Отдельные белки, которых в семействе около тридцати, лишь незначительно отличаются по аминокислотной последовательности, но их комплексы могут формировать различные супрамолекулярные структуры, которые придают эпителиальным клеткам различные физико-химические свойства. В частности, именно кератины обеспечивают механические свойства волос, ногтей, перьев и других производных эпидермиса у позвоночных животных.

Белки промежуточных филаментов клеток мезенхимального происхождения представлены виментином клеток соединительной ткани, эндотелия сосудов и крови, десмином (скелетином) мышечных тканей и глиальным кислым фибриллярным белком астроцитов и других клеток нейроглии. Эти белки имеют молекулярную массу 53-58 кД и формируют в клетках опорные структуры. В частности, десмин входит в состав Z-пластинок, к которым прикреплены актиновые нити в сократительных органоидах мышечных волокон –

миофибриллах. К белкам нейрофиламентов относятся три полипептида с молекулярной массой 68, 145 и 220 кД. Они вместе с микротрубочками входят в состав характерных для нервных клеток структур – нейрофибрилл, которые участвуют в формировании системы внутриклеточного транспорта в теле нейрона и его отростках.

Промежуточные филаменты цитоплазмы локализируются в основном вокруг клеточного ядра, а также образуют пучки, идущие от ядра на периферию клетки. Распределение промежуточных филаментов в клетке в значительной степени совпадает с распределением микротрубочек, что отражает их совместное участие во внутриклеточных транспортных системах.

В отличие цитоплазматических белков, образующих фибриллы, локализованные в клеточном ядре ламины А, В и С (молекулярная масса 60-70 кД) собраны в прямоугольные решетки. Сформированный ими остов, или ядерный матрикс, контактирует с внутренней мембраной нуклеолеммы, обеспечивая поддержание размеров и формы клеточного ядра. Ядерный матрикс из ламин служит также опорной структурой для хромосом. При митозе или мейозе ламины фосфорилируются киназами клеточного деления, что приводит к их деполимеризации и распаду нуклеолеммы на отдельные рассеянные по цитоплазме пузырьки. В конце деления активируются фосфатазы, обеспечивающие полимеризацию ламин и восстановление ядерного матрикса и нуклеолеммы.

### **1.5.3. Микротрубочки**

Микротрубочки представляют собой полые неветвящиеся фибриллы диаметром 25 нм и длиной до нескольких микрометров. В интерфазной клетке одиночные и собранные в рыхлые пучки микротрубочки располагаются по всему объему цитоплазмы. Микротрубочки образуют регулярные структуры в составе клеточного центра, ресничек и жгутиков. В делящихся митозом или мейозом клетках микротрубочки формируют веретено деления.

Подобно микрофиламентам микротрубочки являются линейными полимерами. Они построены из молекул белка тубулина, которые содержат две субъединицы –  $\alpha$  и  $\beta$ . Обе субъединицы тубулина имеют одинаковую молекулярную массу 55 кД.

Полимеризация микротрубочек сопровождается гидролизом ГТФ и происходит путем наращивания молекул тубулина на обоих концах затравки. Аналогично микрофиламентам концы микротрубочек полимеризуются с разной скоростью. Полимеризация микротрубочек может происходить в присутствии негидролизующих аналогов ГТФ, но подавляется кальцием и холодом.

Как и у микрофиламентов, в полимеризации микротрубочек принимают участие вспомогательные белки (таблица 2), которые регулируют различные этапы этого процесса. Белки, ассоциированные с микротрубочками (БАМ), способны стимулировать полимеризацию тубулина, связываясь с затравками. Образованные БАМ-1 и БАМ-2 боковые выросты микротрубочек часто контактируют с секреторными гранулами, которые могут перемещаться по цитоплазме.

Таблица 2 – Связанные с микротрубочками белки.

Название	Функция
БАМ-1 (350 кД) БАМ-2 (270 кД)	стимулируют полимеризацию
$\tau$ -белки (55-70 кД)	сшивают микротрубочки боковыми сторонами
динеин (> 400 кД) кинезин (300 кД)	обеспечивают передвижение микротрубочек с затратой энергии АТФ
нексин	образует мостики между парами микротрубочек

Подобными же свойствами обладают и  $\tau$ -белки. Механохимический белок динеин обеспечивает колебания ресничек с затратой энергии АТФ, функционируя аналогично миозину у микрофиламентов. Сходный с ним белок кинезин (молекулярный вес 300 кД) участвует в передвижении содержащих медиаторы везикул по аксону нейрона. Процессами сборки и разборки микротрубочек управляют протеинкиназы.

В отличие от микрофиламентов микротрубочки не образуют гель. БАМ и другие тубулин-связанные белки только стабилизируют микротрубочки и сшивают их между собой, а также присоединяют микротрубочки к мембранам и промежуточным филаментам.

Ряд веществ, в том числе колхицин (алкалоид из безвременника осеннего), колцемид и нокодозол, подавляют полимеризацию тубулинов, что приводит к обратимой диссоциации микротрубочек. Свойство колхицина и его аналогов разрушать состоящее из микротрубочек веретено деления используется для получения полиплоидных клеток.

Универсальной структурой, организующей систему микротрубочек в клетках животных, является клеточный центр (центросома). Он локализуется около пластинчатого комплекса у клеточного ядра и состоит из двух центриолей и центросферы. Центриоль представляет собой полый цилиндр шириной 150 нм и длиной до 500 нм. Стенка центриоли состоит из девяти триплетов микротрубочек. Первая микротрубочка каждого триплета (А-микротрубочка) имеет по окружности 13 молекул тубулина диаметром 5 нм каждая, а примыкающие к ним вплотную В-микротрубочка и С-микротрубочка – по 11 молекул. Триплеты расположены равномерно по периметру центриоли и повернуты на угол 40° относительно радиуса. От А-микротрубочки отходят две «ручки» – боковые выросты, образованные БАМ. Один из них направлен к микротрубочке С соседнего триплета, а второй – к центру. Триплеты погружены в аморфную муфту, или оправу.

В клеточном центре обе центриоли располагаются строго перпендикулярно друг к другу, образуя диплосому. Центриоли диплосомы не одинаковы. Одна из них, материнская, на дистальном конце имеет выросты – «шпоры». Проксимальный конец дочерней центриоли, который приближен к поверхности материнской, содержит «втулку» диаметром 25 нм и 9 «спиц», направленных к микротрубочкам А. Окружающая диплосому центросфера состоит из радиально отходящих от центриолей микротрубочек. Они не имеют непосредственного

контакта с центриолями, но связаны с муфтой или сателлитами. Последние располагаются на триплетах материнской центриоли и состоят из конусовидных ножек и округлых головок. Вокруг диплосомы могут также находиться фокусы схождения микротрубочек - плотные тельца диаметром 20–40 нм, к которым прикреплены одна или несколько микротрубочек.

Клеточный центр отсутствует в клетках высших растений, некоторых грибов и простейших. В делящихся клетках клеточный центр участвует в формировании веретена деления. В неделящихся клетках клеточный центр может превращаться в базальное тельце специализированных органоидов движения – ресничек и жгутиков. Реснички и жгутики устроены однотипно и представляют собой выросты плазмолеммы диаметром 300 нм. Центральную часть этого выроста занимает состоящая из микротрубочек осевая структура – аксонема, прикрепленная к расположенному в цитоплазме базальному тельцу. Диаметр аксонемы и базального тельца составляет 200 нм. Стенка аксонемы состоит из девяти дублетов микротрубочек, а ее центральную часть занимают еще две свободные микротрубочки. А-микротрубочка дублета содержит по окружности 13, а примыкающая к ней В-микротрубочка – 11 молекул тубулина. А-микротрубочка имеет три отростка: две ручки, направленные к В-микротрубочке соседнего дублета, и спицу, которая отходит в радиальном направлении. Спица заканчивается головкой, присоединенной к центральной муфте диаметром около 70 нм, которая окружает две свободные микротрубочки, отстоящие друг от друга на 25 нм. Оси дублетов наклонены под углом  $10^\circ$  к радиусу аксонемы. В отличие от аксонемы базальное тельце имеет структуру как у центриоли. В месте перехода аксонемы в базальное тельце расположена поперечная пластинка из аморфного вещества.

Волнообразные движения ресничек и жгутиков обеспечиваются белком динеином, который образует ручки дублетов. Динеин обладает АТФ-азной активностью, он образован 12 полипептидами молекулярной массой от 85 до 400 кД. При его взаимодействии с микротрубочками происходит продольное скольжение дублетов друг относительно друга, что приводит к изгибанию реснички.

#### **1.5.4. Микротрабекулярная сеть**

Микротрабекулярная сеть состоит из фибрилл, которые прикреплены к уплотнениям на различных органоидах клетки. В отличие от других компонентов цитоскелета они гетерогенны, различаясь между собой как по диаметру, так и по длине. Микротрабекулы состоят из специфических белков. Один из таких белков, спазмин, был выделен из клеток простейших, где он участвует в изменении формы клетки в зависимости от концентрации кальция. Впоследствии спазмин обнаружили также в клетках млекопитающих вблизи клеточного центра.

### **1.6. Клеточное ядро**

Ядро представляет собой органоид, в котором сосредоточена почти вся наследственная информация клетки. Все организмы, состоящие из клеток, подразделяются на две группы – лишённые ядра прокариоты и имеющие ядро

эукариоты. Наследственная информация прокариот, к которым относятся бактерии, сине-зеленые водоросли и микоплазмы, зашифрована в молекуле ДНК длиной не более 2 мм, тогда как общая длина молекулы ДНК эукариот может достигать 2 м. ДНК бактерий кодирует около 3000 генов, в то время как ДНК эукариот кодирует до 30 000 генов. Из этого сравнения следует, что клеточное ядро необходимо для хранения и функционирования большой и сложной системы генов, которой обладают эукариоты.

### **1.6.1. Структура клеточного ядра**

У большинства клеток ядро имеет диаметр 4–8 мкм, округлую форму и находится в центральной части цитоплазмы, занимая от 10 до 40 % ее объема. Однако не менее редки случаи, особенно в специализированных клетках, когда ядро значительно отличается своими размерами, формой и локализацией. Примерами могут служить сперматозоиды, яйцеклетки, гигантские нейроны, сегментоядерные лейкоциты, мегакариоциты красного костного мозга и многие другие клетки. Некоторые клетки вообще могут быть лишены ядер как, например, эритроциты млекопитающих. Клеточное ядро, таким образом, способно видоизменяться в широких пределах в соответствии потребностями клетки и организма.

Клеточное ядро состоит из следующих структурных компонентов:

- ядерной оболочки, или нуклеолеммы;
- хроматина, представляющего собой комплекс ДНК с белками;
- белкового матрикса;
- одного или нескольких ядрышек;
- ядерного сока (кариолимфы, нуклеоплазмы).

В ядрах клеток печени материал нуклеолеммы и ядерного матрикса составляет 3–5 %, хроматина – около 70 %, ядрышек – около 7 % и кариолимфы – 20 %. Однако, эти соотношения могут варьировать в зависимости от типа клетки и ее функциональной активности. Например, в нерастаущих клетках содержание хроматина достигает почти 100 %, тогда как в быстрорастущих клетках увеличивается доля ядрышек. Ядерный матрикс значительно разрастается в опухолях.

Оболочка ядра нуклеолемма изолирует его содержимое от цитоплазмы. Она состоит из наружной и внутренней мембран толщиной по 7–10 нм, между которыми имеется перинуклеарное пространство шириной 15–30 нм. Наружная мембрана часто связана с цистернами и канальцами плазматической сети. Поэтому перинуклеарное пространство может сообщаться с плазматической сетью и другими компонентами мембранной системы клетки. Наружная мембрана ядра обладает большим сходством с цитоплазматическими мембранами. Кроме липидов и белков она содержит до 16 % углеводов. К ней могут прикрепляться рибосомы и полирибосомы, синхронно с репликацией ДНК синтезирующие ядерные белки.

Внутренняя мембрана нуклеолеммы обладает рядом химических и структурных особенностей. С внутренней стороны к ней плотно прилегает фиброзный слой, или ламина, толщиной 10–20 нм, который состоит из белков промежуточных филаментов. С ламиной тесно связан внутренний ядерный

матрикс, поэтому даже при полном удалении нуклеолеммы ядро сохраняет свою форму. Наружная и внутренняя мембраны нуклеолеммы соединены между собой в ядерных порах, которые представляют собой отверстия в нуклеолемме диаметром около 80 нм. Как с цитоплазматической, так и с ядерной стороны по краю поры располагаются два кольца, каждый из которых состоит из 8 уплощенных субъединиц. На внутренней поверхности поры имеется 8 радиальных выступов, или «спиц», локализация которых совпадает с расположением субъединиц в кольцах. С цитоплазматической стороны с каждой субъединицей кольца связана частица диаметром 25 нм. В центре поры часто видна еще одна, центральная гранула диаметром 10-40 нм. Внутри поры иногда можно заметить и другие структуры. В частности, с ядерной стороны у входа в пору обнаруживаются фибриллярный, а с цитоплазматической стороны – гранулярный материал. В целом ядерные поры вместе с окружающими ее структурами формируют поровые комплексы, диаметр которых достигает 100–120 нм.

Структура поровых комплексов не обладает тканевыми или видовыми особенностями. Их количество в ядре пропорционально числу хромосом и может меняться в зависимости от метаболической активности клетки. Поровые комплексы обеспечивают селективный транспорт веществ между ядром и цитоплазмой, но детали этого процесса остаются неясными. Недавно было показано, что поровые комплексы участвуют в процессинге иРНК, которые транскрибируются в расположенных рядом участках генома. Имеются также данные о том, что поровые комплексы специфически распознают поступающие из цитоплазмы в ядро белки.

При окрашивании клеточных ядер основными красителями в них выявляется вещество, которое В. Флемминг в 1880 г. назвал хроматином. В классической цитологии хроматину противопоставляли неокрашиваемое вещество ядра – ахроматин, или линин. В настоящее время это противопоставление утратило актуальность, но термин «хроматин» сохранился. Им обозначают комплексы «ДНК-белок», которым заполнена большая часть объема ядра.

Хроматин в ядре распределен неравномерно: более конденсированные участки гетерохроматина чередуются с менее конденсированными участками эухроматина. Гетерохроматин и эухроматин различаются также функционально – большинство структурных генов локализовано в эухроматине, тогда как гетерохроматин в основном содержит повторяющиеся последовательности некодирующей ДНК.

Распределение гетерохроматина и эухроматина в ядре зависит от функциональной активности клетки, ее пролиферативного состояния, стадии дифференцировки, тканевой и видовой специфичности. В связи с этим различают конститутивный гетерохроматин, который всегда остается в конденсированном состоянии, и факультативный гетерохроматин, представляющий собой временно конденсированный эухроматин. Особенно много факультативного гетерохроматина в неделящихся, зрелых клетках, где активировано не более 10 % генов.

Во многих клетках растений и животных гетерохроматиновые участки клеточного ядра формируют скопления – хромоцентры. Они трактуются в

последнее время как морфологическое проявление тканеспецифического взаимодействия негомологичных участков генома – эктопической конъюгации хромосом.

Кроме ДНК-содержащего хроматина в клеточном ядре обнаруживаются также РНК-содержащие структуры – интерхроматиновые фибриллы и гранулы, перихроматиновые фибриллы и гранулы, тельца Кахаля и др., которые различаются между собой локализацией, размерами и формой. Более крупные перихроматиновые фибриллы и гранулы диаметром около 20 нм локализуются по периферии ядра около нуклеолеммы. Они представляют собой субъединицы рибосом различной степени зрелости. Интерхроматиновые фибриллы и гранулы диаметром 4–7 нм локализуются во внутренних эухроматиновых областях ядра и являются, вероятно, морфологическим выражением различных этапов синтеза и процессинга иРНК. Тельца Кахаля диаметром 0,1–1,0 мкм, возможно, принимают участие в регуляции транскрипции.

Ядерный матрикс выделяют, обработав изолированные клеточные ядра неионными детергентами в сочетании с обработкой 2М раствором NaCl, ДНК-азой и РНК-азой. Он состоит из ламины, белкового скелета ядрышек и фибриллярно-гранулярной сети. Основным компонентом ядерного матрикса представлен многочисленными гранулами диаметром 25–30 нм, которые соединяются между собой в фибриллярные структуры.

В химическом отношении ядерный матрикс практически полностью построен из белков. Наиболее изученные из них – это ламины А, В и С (молекулярная масса 65–70 кД). Ламины А и С имеют почти идентичную аминокислотную последовательность, но первый из них длиннее второго на 82 остатка. Центральные  $\alpha$ -спиральные домены этих белков обладают большим сходством первичной структуры с аналогичными доменами кератинов и других белков промежуточных филаментов цитоплазмы. В физиологическом растворе ламины А и С образуют фибриллы диаметром 10 нм. Ламин В существенно отличается от ламин А и С не только первичной структурой, но и более прочной связью с нуклеолеммой, входя в состав поровых комплексов. В отличие от белков промежуточных филаментов цитоплазмы ламины образуют не фибриллы, а трехмерные сети с ортогональной укладкой молекул.

Функции ламин заключаются в поддержании размеров и формы клеточного ядра, а также его перестройке при делении клетки или гибели ее путем апоптоза. В частности, циклин-зависимые киназы клеточного деления фосфорилируют ламины А и С, что вызывает обратимую дезинтеграцию нуклеолеммы. При апоптозе ламины атакуются специфическими протеазами – каспазами, необратимо разрушающими ядерный матрикс.

Помимо ламин в состав ядерного матрикса входит еще не менее пяти групп белков с молекулярной массой от 10 до 200 кД. Некоторые из них обеспечивают прикрепление ДНК к ядерному матриксу (белки MAR – matrix attachment regions).

Представления о кариолимфе (нуклеоплазме, ядерном соке) возникли еще в то время, когда о химическом составе ядра почти ничего не было известно. Позднее ее рассматривали как содержащийся в ядре коллоидный раствор белка,

который не окрашивается применяемыми в световой микроскопии основными или кислыми красителями и слабо контрастируется на электронно-микроскопических препаратах. Тем не менее, понятие о кариолимфе сохранилось до сих пор для обозначения растворимой фракции клеточного ядра. Подразумевается, что в нее входят вода, а также растворенные в ней ионы натрия, калия, хлора, магния и кальция, низкомолекулярные ДНК и РНК, ферменты, метаболиты транскрипции и репликации, глобулины и другие молекулы.

### **1.6.2. Хроматин**

Хроматин, несомненно, представляет собой наиболее важный компонент клеточного ядра, поскольку именно в нем содержится геном клетки. В ядрах клеток печени содержание хроматина составляет не менее 65–70 %. Хроматин состоит из ДНК и белков, причем на ДНК приходится 30 % массы хроматина, а на белки – 70 %.

#### ***Белки хроматина***

Белки хроматина подразделяются на две группы: основные белки – гистоны и кислые, или негистоновые белки. Содержание гистонов в хроматине достигает 50 %, тогда как кислых белков обычно намного меньше – до 20 %. Однако в отличие от ДНК и гистонов, содержание которых в хроматине неделящихся клеток стабильно, количество кислых белков может меняться в зависимости от функционального состояния клетки.

Гистоны представляют собой небольшие белки (молекулярная масса 11–22 кД) с повышенным содержанием основных аминокислот – аргинина, лизина и гистидина. За счет этого их молекулы заряжены положительно и легко вступают в ионные связи с отрицательно заряженными молекулами ДНК.

Различают пять главных молекулярных форм гистонов – Н1, Н2А, Н2В, Н3 и Н4. Все гистоны, кроме Н1, имеют глобулярную форму и отличаются высокой эволюционной консервативностью. Наиболее богатый лизином гистон Н1 отличается от других гистонов тканевой и видовой специфичностью. Молекула его содержит 223 аминокислотных остатка и формирует в физиологических условиях три домена. Первый домен образован 35 остатками на N-конце и заряжен положительно. Второй домен (с 36 по 121 остаток) формирует глобулярную структуру, а остальные остатки до С-конца принадлежат третьему домену, который отличается фибриллярной формой и высокой плотностью положительного заряда.

Гистоны взаимодействуют в хроматине с ДНК, обеспечивая пространственную укладку ее молекулы в ограниченном объеме ядра эукариотической клетки. Одновременно гистоны, в особенности гистон Н1, участвуют в регуляции активности генов. В ядрах эритроцитов птиц гистон Н1 замещен похожим на него гистоном Н5, который вызывает тотальную конденсацию ДНК и полное подавление активности генов. Полная репрессия генетической активности наблюдается также в сперматозоидах, причем у некоторых насекомых, рыб, птиц и пресмыкающихся гистоны в ядрах этих клеток замещаются на протамины – короткие фибриллярные полипептиды с

молекулярной массой около 5 кД, которые почти целиком состоят из основных аминокислот.

Кислые, или негистоновые, белки хроматина образуют значительно более разнообразную и многочисленную группу, чем гистоны. Общее количество различных молекулярных форм негистоновых белков в клетках составляет не менее 500. Многие из них, вероятно, обладают как видовой, так и тканевой специфичностью. Негистоновые белки отличаются высокой метаболической активностью и способностью к посттрансляционным модификациям. Среди них имеются различные ферменты, участвующие в метаболизме нуклеиновых кислот (полимеразы, топоизомеразы, метилазы, эндонуклеазы) и белков (протеинкиназы, фосфатазы, метилазы, ацетилазы, протеазы), транспортные и регуляторные белки, внутриядерные рецепторы гормонов и др.

Наиболее изученными негистоновыми белками хроматина является группа белков высокой подвижности – HMG (high mobility group). Первоначально они были обнаружены как примесь к гистону H1, отличаясь более высокой электрофоретической подвижностью. В настоящее время хорошо изучены 5 белков этой группы – HMG-1, -2, -14, -17, -20. Белки HMG-1 и HMG-2 (молекулярная масса 26 кД) имеют близкие последовательности, они способны приобретать глобулярную форму и связываться с ДНК. Белки HMG-14 и HMG-17 (молекулярная масса около 10 кД) также гомологичны между собой, но отличаются от предыдущих белков, обладая способностью связываться с гистонами. Белок HMG-20, или убиквитин (молекулярная масса 8,5 кД), содержится не только в ядре, но и в цитоплазме. Он способен ковалентно присоединяться к С-концу других белков, ускоряя их протеолиз. Так, например, при созревании эритроцитов удаление белков, уже выполнивших свою функцию, осуществляется путем АТФ-зависимого протеолиза с участием убиквитина. В ядре убиквитин присоединяется к гистону H2A, формируя белок A24, который локализован в местах активной транскрипции ДНК. Все HMG-белки содержат ДНК-связывающий домен (HMG-домен), состоящий из 80 аминокислотных остатков. В последнее время этот домен обнаружен и в других белках хроматина, например, в некоторых регуляторах транскрипции.

Все HMG-доменные белки подразделяются на два типа. К первому типу относятся HMG-1, HMG-2 и белок UBF, который регулирует РНК-полимеразу I, синтезирующую рРНК. Эти белки имеются у всех клеток, могут содержать несколько HMG-доменов, но не обладают селективностью к нуклеотидным последовательностям ДНК. Второй тип HMG-белков содержит только один домен, который узнает участки ДНК с высокой специфичностью. Эти белки встречаются у ограниченного числа клеточных типов. Примером может служить транскрипционный фактор LEF-1, который характерен для лимфоцитов. Белки, имеющие один HMG-домен, распознают и с высокой эффективностью связываются с нерегулярными структурами ДНК. К ним относятся одноцепочечные участки, крестообразные хиазмы, химически модифицированные участки и другие структуры в молекуле ДНК.

#### ***Уровни структурной организации хроматина***

Молекулы ДНК имеют диаметр 2 нм, но их длина в хромосомах может

достигать нескольких сантиметров. Очевидно, что упаковка таких длинных молекул в объеме клеточного ядра, имеющего диаметр всего 5–8 мкм, должна быть в высшей степени регулярной. Проблема укладки молекул ДНК в ограниченном объеме ядра осложняется еще и тем, что одновременно необходимо обеспечить возможность локальной распаковки ДНК и доступа к ней ферментов репликации и транскрипции. Вот почему хроматин в клеточном ядре образует сложные пространственные структуры с несколькими уровнями организации.

Первый уровень укладки ДНК в хроматине обеспечивается нуклеосомами. Они представляют собой округлые частицы диаметром 15 нм, которые связаны между собой участками ДНК длиной около 20 нм. Отдельная нуклеосома состоит из белковой сердцевины, на которую накручена молекула ДНК.

Белковая сердцевина нуклеосомы, или кор, имеет форму диска диаметром 11 нм и толщиной 6 нм. Она содержит по две молекулы гистонов H2A, H2B, H3 и H4. Если развернуть сердцевину, то можно обнаружить, что молекулы гистонов соединены в последовательности H2A, H2B, H4, H3, H3, H4, H2B, H2A. При сворачивании сердцевины молекулы гистонов располагаются как бы в два этажа, наподобие винтовой лестницы.

Молекула ДНК в виде левозакрученной суперспирали совершает 1,75 оборота вокруг сердцевины. При этом в непосредственный контакт с гистонами вступает 146 пар нуклеотидов. Длина линкерной ДНК, соединяющей соседние нуклеосомы, колеблется в пределах 40–70 пар нуклеотидов в зависимости от типа клетки. Таким образом, на одну нуклеосому приходится в среднем около 200 пар нуклеотидов ДНК.

Нуклеосомы укорачивают молекулу ДНК примерно в 7 раз. Они обнаружены во всех эукариотических клетках и даже у ДНК-содержащих вирусов. Однако это не означает, что вся ДНК клеточного ядра связана с нуклеосомами, и некодирующие повторы могут иметь другую укладку.

Второй уровень укладки ДНК обеспечивается взаимодействием линкерной ДНК с гистоном H1. Молекула гистона H1 своим глобулярным доменом связывается с двумя витками ДНК на нуклеосоме. Одновременно С-концевой фибриллярный домен гистона H1 вступает в контакт с линкерной ДНК. В результате соседние нуклеосомы приближаются друг к другу, формируя группы из 6–8 частиц – нуклеомеры (супербусины) диаметром 25–30 нм.

Последовательность аминокислот в С-доме гистона H1 гомологична первичной структуре некоторых регуляторов транскрипции. В связи с этим предполагается, что гистон H1 конкурирует с факторами транскрипции за связывание с линкерной ДНК, контролируя тем самым активность генов.

Третий уровень укладки ДНК представлен хроматиновыми фибриллами диаметром 30 нм, которые хорошо видны в электронном микроскопе в интерфазных ядрах и митотических хромосомах. Они имеют суперспиральную структуру и содержат максимально сближенные между собой нуклеомеры. В формировании фибрилл диаметром 30 нм принимают участие гистон H1, а также негистоновые белки с HMG-доменом. За конденсацию хроматина в фибриллу диаметром 30 нм отвечает, прежде всего, С-концевой домен гистона H1. При этом первостепенное значение приобретает уже не взаимодействие гистона с ДНК, а

взаимные связи гистоновых молекул между собой.

Образование нуклеомеров и хроматиновых нитей диаметром 30 нм вызывает дальнейшую компактизацию ДНК в 40–50 раз.

Четвертый уровень укладки ДНК обеспечивается взаимодействием фибрилл диаметром 30 нм с ядерным матриксом. При этом формируются петлевые домены, содержащие в среднем 90 тысяч пар нуклеотидов. В расплавленном состоянии их длина может достигать 20 мкм. Концы таких петель прикреплены к ядерному матриксу в особых точках, обозначаемых как MARs (matrix attachment regions) или SARs (scaffold attachment regions). Эти точки содержат молекулы свободной ДНК («форум-ДНК») длиной 50–150 пар нуклеотидов, которые устойчивы к действию нуклеаз и выделяются из ядра независимо от высокомолекулярной ДНК. Точки MARs содержат также топоизомеразу II, участвующую в формировании изгибов ДНК. Со стороны ядерного матрикса прикрепление хроматиновых нитей обеспечивается ламинем А.

Петлевые домены являются типовой структурно-функциональной единицей хроматина. Домен во многом автономен, независимо реплицируется и транскрибируется. В своем составе домены имеют кластеры генов, которые связаны функционально. Петлевые домены обеспечивают компактизацию молекулы ДНК в 700 раз.

Пятый уровень укладки ДНК связан с формированием групп из 18–20 петлевых доменов, прикрепленных в виде розетки к общему центру из белков ядерного матрикса. Розетки из петлевых доменов находятся в хроматине в компактном состоянии, образуя округлые гранулы диаметром около 150 нм – хромомеры. При активации локализованных в хромомере генов его величина может возрастать до 300 нм и более.

Шестой уровень укладки ДНК определяется формированием хромонемы – фибриллярной структуры диаметром 200–300 нм, состоящей из плотно упакованных хромомеров. В хроматине интерфазного ядра хромонемы обычно не выявляются. Они становятся видимыми только при конденсации хроматина в профазе митоза, а также в ранней телофазе при деконденсации хромосом. Хромомерный и хромонемный уровни укладки позволяют укоротить длину молекулы ДНК в 10 000 раз.

Седьмой уровень укладки ДНК состоит в образовании хроматид (однохроматидных хромосом) из хромонем. Толщина хроматиды составляет в среднем 700–800 нм. Если учесть, что толщина хромонемы обычно равна 100–200 нм, то коэффициент упаковки для хромосомного уровня составляет не более 10. Способ укладки хромонемы в хромосоме изучен недостаточно. У одних видов хромонема имеет вид спирали, у других в одной хромосоме могут обнаруживаться две и более параллельные друг другу хромонемы. Хромосомный уровень укладки ДНК в большей степени, чем другие уровни, отражает видовые особенности организации генома эукариот.

Каждый вид, как известно, имеет характерный для него набор хромосом. Однако хромосомы можно наблюдать в микроскоп только при делении клеток митозом или мейозом. В ядрах неделящихся клеток хромосомы находятся в

деконденсированном состоянии, образуя хроматин. Тем не менее, даже в интерфазном ядре хромосомы сохраняют свою индивидуальность, занимая в нем определенные хромосомные территории. Согласно К. Раблю (1885) хромосомы прикреплены к нуклеолемме теломерными концами, тогда как центромерные участки располагаются ближе к центру ядра. Новейшие исследования интерфазного ядра с помощью конфокальной микроскопии подтверждают эту концепцию, добавляя к ней ряд существенных деталей. В частности, гомологичные хромосомы локализованы на противоположных сторонах ядра. При активации генов и сопутствующей этому деконденсации хромосомы удлиняются, смещаясь к центру ядра. Вот почему в животных и некоторых растительных клетках гетерохроматин концентрируется преимущественно по периферии, тогда как эухроматин занимает центральную область ядра.

### **1.6.3. Ядрышко**

Ядрышко выявляется внутри ядер в живых и фиксированных клетках как округлое тельце диаметром 1–5 мкм. Основным химическим компонентом ядрышка являются белки, которые составляют до 90 % его массы. Кроме белков они содержат также РНК (10–16 %) и ДНК (до 8 %). Ядрышко способно отделяться от хроматина и удерживать при этом участки ДНК, связанные с ним.

Крупные ядрышки обнаруживаются у всех активно синтезирующих белки клеток, которые отличаются базофилией цитоплазмы из-за большого числа рибосом. Подобная картина наблюдается как в интенсивно делящихся клетках, так и в неделящихся клетках, для которых характерна продукция большого количества белка (например, в железистом эпителии). Ядрышки отсутствуют в клетках дробящихся яиц, а также в некоторых высокодифференцированных клетках со сниженным уровнем метаболизма (например, в лейкоцитах крови).

Ядрышко является местом синтеза рРНК и образования предшественников рибосом. В нем выделяют следующие структурные компоненты:

- ядрышковый организатор (фибрилярный центр);
- плотный фибриллярный компонент;
- гранулярный компонент;
- околядрышковый гетерохроматин;
- белковый сетчатый матрикс.

Ядрышковый организатор, морфологически выявляемый в виде фибриллярного центра, представляет собой хроматин, в котором локализованы гены рРНК. Он является наиболее стабильной частью ядрышка и сохраняется при делении клетки, когда функционирование ядрышек временно прекращается. Ядрышки клеток человека могут содержать до 30 фибриллярных центров.

В электронном микроскопе фибриллярные центры выглядят как небольшие округлые образования низкой электронной плотности, образованные фибриллами диаметром 2–3 нм. Эти фибриллы представляют собой нити ДНК, содержащие неактивные гены рРНК. Активно транскрибируемые гены рРНК локализуются по периферии фибриллярных центров. Рибосомные гены представлены в геномах эукариот сотнями и тысячами копий. У человека имеется 540 копий рибосомных генов, но в ядрышке активируется не более 140. У амфибий число копий может

достигать 20 000. Рибосомные гены собраны в кластеры, локализованные в районах вторичных перетяжек хромосом.

Фибриллярные центры отличаются пониженным содержанием гистона H1 и избирательно импрегнируются AgNO<sub>3</sub>. Это свойство фибриллярных центров обусловлено особыми белками, которые содержат аминокислоту диметиларгинин и сильно фосфорилированы.

Плотный фибриллярный компонент окружает фибриллярные центры, отличаясь от них повышенной электронной плотностью. Он образован фибриллами диаметром 4–8 нм, содержащими РНК. Эти фибриллы состоят из высокомолекулярного предшественника рРНК (45S пре-рРНК), который образуется на границе с фибриллярным центром путем транскрипции рибосомных генов РНК-полимеразой I. Они также содержат рибосомные белки, которые связываются с первичным транскриптом.

В дальнейшем происходит расщепление предшественника рРНК на более короткие фрагменты при помощи нуклеаз. Специфическими маркерами процессинга рРНК являются белки нуклеолин и фибрилларин.

Гранулярный компонент состоит из гранул размером 15–20 нм, которые заполняют пространство вокруг фибрилл, занимая до 80 % объема ядрышка. Эти гранулы содержат РНК и белки и являются предшественниками субъединиц рибосом различной степени зрелости. Маркерным белком сборки предшественников рибосом является полипептид В23.

Гранулярный компонент возникает в результате расщепления фибриллярного компонента. Если обработать клетки антибиотиком актиномицином D, который подавляет синтез РНК, то происходит сегрегация фибриллярного и гранулярного компонентов и постепенная деградация последнего. Иногда фибриллярный и гранулярный компоненты ядрышка образуют комплекс удлинённых тяжей шириной до 200 нм – нуклеолонему.

Околоядрышковый гетерохроматин окружает ядрышко по периферии, но может также заходить в него между петлями нуклеолонемы. В электронном микроскопе видно, что он состоит из хроматиновых фибрилл диаметром 30 нм. Околоядрышковый гетерохроматин, вероятно, определяет локализацию ядрышка в клеточном ядре.

Белковый сетчатый матрикс выявляется в ядрышке после экстракции из него РНК, ДНК и белков. Он представлен рыхлой фибриллярной сетью, которая заполняет весь объем ядрышка. Белковый матрикс ядрышка является составной частью ядерного матрикса.

В некоторых клетках вблизи от ядрышек располагаются тельца Кахаля (клубочковые тельца) – округлые аргирофильные образования диаметром от 100 нм до 1 мкм. Они были открыты в нейронах головного мозга млекопитающих испанским цитологом С. Рамон-и-Кахалем в 1903 г. Позднее они были обнаружены также в клетках растений, насекомых и амфибий. В эмбриональных клетках тельца Кахаля формируют парную структуру – gem. В последнее время установлено, что эти органоиды содержат ферменты, регуляторные белки и рибонуклеопротеиды, принимающие участие в транскрипции ДНК. Специфическим маркером телец Кахаля является белок коилин с молекулярной

массой 80 кД. Предполагается, что тельца Кахаля, тесно взаимодействуя с ядрышками, обеспечивают созревание транскриптом – особых органоидов, обеспечивающих транскрипцию гистоновых и других крупных генных локусов. На роль транскриптом претендуют интерхроматиновые гранулы.

### **1.7. Рибосомы и биосинтез белка**

Рибосомы были обнаружены в цитоплазме животных клеток с помощью электронного микроскопа американским исследователем Г. Паладе (1955). В период с 1956 по 1958 гг. рибосомы были выделены из дрожжей, растений, животных и бактерий. Они оказались рибонуклеопротеидными частицами диаметром около 25 нм, содержащими основную массу цитоплазматической РНК. В 1958 г. на симпозиуме в Массачусетском технологическом институте Р. Робертс предложил назвать эти частицы «рибосомами».

Первые данные о том, что рибосомы отвечают за включение аминокислот в новые белки, были получены в лаборатории П. Замечника (1955). К 1959 г. было окончательно доказано, что рибосомы обеспечивают биосинтез белка.

Рибосомы локализируются в цитоплазме эукариотической клетки. В секреторных клетках значительная часть рибосом прикреплена к мембранам плазматической сети со стороны гиалоплазмы. Синтез белков для собственных потребностей клетки происходит на свободных, не связанных с мембранами рибосомах, которые рассеяны по гиалоплазме. Количество рибосом в клетке пропорционально ее метаболической активности, прежде всего уровню белкового синтеза.

Рибосомы образуются в ядрышке и поэтому их компоненты можно обнаружить в клеточном ядре. Однако в ядре клетки они еще не активны и там никогда не наблюдается биосинтез белка.

Кроме гиалоплазмы, рибосомы содержатся также в митохондриях и хлоропластах. Рибосомы этих органоидов, однако, имеют ряд структурно-функциональных отличий от цитоплазматических рибосом.

#### **1.7.1. Структура рибосом**

Клетки бактерий, сине-зеленых водорослей и актиномицетов содержат рибосомы с коэффициентом седиментации 70S. Этот коэффициент является мерой относительной плавучей плотности частиц при их центрифугировании в градиенте плотности хлористого цезия или сахарозы. Единица плавучей плотности S (сведберг) названа так в честь изобретателя ультрацентрифуги шведского ученого Т. Сведберга. Коэффициент седиментации зависит как от массы, так и от формы частицы. Молекулярная масса прокариотических рибосом составляет 2,5 мД, форма округлая со средним диаметром 25 нм. Общее количество рибосом в бактериальной клетке достигает 30 % ее сухого веса. Относительное количество белка в них в два раза меньше, чем РНК.

Рибосомы прокариотического типа с коэффициентом седиментации 70S содержатся также в хлоропластах высших растений. Однако рибосомы митохондрий, хотя и похожи на бактериальные, обладают более высокой видовой специфичностью. В частности, митохондриальные рибосомы дрожжей несколько

крупнее типичных прокариотических рибосом (75S), тогда как митохондриальные рибосомы млекопитающих, наоборот, значительно меньше бактериальных (55S).

Клетки животных, растений, грибов и простейших содержат рибосомы с коэффициентом седиментации 80S. Их молекулярная масса составляет 4 мД, а средний диаметр – 30 нм. Относительное количество белка в них приблизительно равно количеству РНК. Эукариотический тип рибосом не имеет видовых различий.

На малом увеличении электронного микроскопа (до 20 000х) рибосомы выглядят как электронно-плотные округлые частицы диаметром 25–30 нм. На большом увеличении (выше 100 000х) видно, что они разделены бороздкой на две неравные части, представляющие собой малую и большую субъединицы с соотношением масс 1:2.

В физиологических условиях рибосомы обратимо диссоциируют на субъединицы. При этом прокариотические рибосомы диссоциируют по схеме:



тогда как эукариотические рибосомы диссоциируют по схеме:



Дефицит коэффициента седиментации связан с тем, что плавучая плотность рибосом зависит не только от массы субъединиц, но и от их формы. Малая субъединица прокариотической рибосомы 30S имеет продолговатую форму, ее длина составляет 23 нм, а ширина – 12 нм. Она разделена на доли, которые называются «головка», «тело» и «боковой выступ». Наиболее выражена поперечная борозда, которая разделяет головку и тело. Малая субъединица эукариотической рибосомы 40S похожа на малую прокариотическую субъединицу 30S, но имеет две дополнительные детали – выступ головки со стороны, противоположной боковому выступу тела, а также раздвоенность дистального конца тела.

Большая субъединица прокариотической рибосомы 50S диаметром 25 нм внешне идентична большой субъединице эукариотической рибосомы 60S. В большой субъединице имеются три выступа: средний выступ или «головка», боковая доля или «ручка», палочковидный отросток или «носик». В целом форма большой субъединицы напоминает чайник для заварки.

Объединение субъединиц в полную рибосому происходит строго закономерным образом. При этом головки и боковые выступы малой и большой субъединиц ориентируются в одну сторону и накладываются друг на друга. Уплощенные поверхности субъединиц также взаимно дополняют друг друга в пространстве.

Рибосома состоит из РНК и белков, причем основные структурно-функциональные свойства этого органоида определяются рибосомальной РНК.

Прокариотические рибосомы содержат три, а эукариотические - четыре молекулы рибосомальной РНК. РНК малой субъединицы с коэффициентами седиментации 16S и 18S имеет от 1500 до 1800 нуклеотидных остатков. Она обладает значительной внутренней комплементарностью, за счет чего формируется около трех десятков коротких двуспиральных участков – «шпилек», которые детерминируют форму малой субчастицы.

Длинная молекула РНК большой субъединицы с коэффициентом седиментации 18S или 26S содержит от 3000 до 4800 нуклеотидных остатков. За счет внутренней комплементарности в ней формируется более 100 двойных спиралей, которые определяют форму субъединицы.

Кроме длинной РНК, большая субъединица прокариотических и эукариотических рибосом содержит также короткую 5S РНК, состоящую из 120 нуклеотидных остатков, которая за счет внутренней комплементарности формирует Т-образную структуру с 5 спиральными участками.

Большая субъединица эукариотических рибосом содержит дополнительно 5,8S РНК. Она состоит из 160 нуклеотидных остатков и комплементарно связана с 26S РНК. Следует отметить, что 5,8S РНК большой субъединицы эукариотических рибосом гомологична 5'-концу бактериальной 23S РНК.

Таким образом, основная функция рибосомальных РНК состоит в формировании молекулярного скелета малой и большой субъединиц рибосомы.

Рибосомы содержат 50–70 различных белков, причем большинство из них представлено лишь одной молекулой. Молекулярная масса рибосомальных белков находится в пределах 10–30 кД, хотя отдельные полипептиды достигают массы 70 кД. Среди рибосомальных белков преобладают основные полипептиды, но встречаются также нейтральные и кислые белки. Малая субъединица прокариотической рибосомы содержит 20 белков, а большая – 30 белков. У эукариотических рибосом белков значительно больше: малая субъединица содержит 30 белков, а большая – 40.

Рибосомальные белки осуществляют разнообразные функции, связанные с ролью рибосомы как организатора биосинтеза белка:

- формируют участки малой и большой субъединиц;
- образуют центры связывания молекул;
- катализируют химические реакции;
- участвуют в регуляции биосинтеза белка;

Многие рибосомальные белки выполняют одновременно несколько функций.

### **1.7.2. Белоксинтезирующая система**

Наследственная информация закодирована в первичной структуре ДНК, которая в эукариотических клетках сосредоточена в клеточном ядре. Участки ДНК, кодирующие первичную структуру полипептида – структурные гены, являются матрицами для синтеза информационной РНК (иРНК). Процесс образования функциональных копий генов в виде иРНК называется транскрипцией. Отредактированные в ходе сплайсинга иРНК поступают затем в цитоплазму, где связываются с рибосомами. Используя информацию, закодированную в иРНК, рибосомы синтезируют полипептид в ходе процесса, называемого трансляцией. Синтез полипептида из аминокислот осуществляется в соответствии с генетическим кодом, который представляет собой правила соответствия аминокислот триплетам нуклеотидов в иРНК (кодонам).

Кроме иРНК и рибосом для осуществления трансляции необходим еще ряд других молекул. Рибосомы совместно с молекулами, принимающими участие в трансляции, образуют белоксинтезирующую систему, которая может

функционировать вне клетки. Составы минимальной и полной бесклеточной систем трансляции на прокариотических рибосомах представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Бесклеточная система трансляции.

Минимальная	Полная
70S рибосомы <i>E. coli</i>	70S рибосомы <i>E. Coli</i>
иРНК	ИРНК
набор из 20 аминоксил-тРНК	набор из 20 аминокислот
фактор элонгации EF-T <sub>u</sub>	набор 20 аминоксил-тРНК-синтетаз
фактор элонгации EF-T <sub>s</sub>	набор из 20 тРНК
фактор элонгации EF-G	факторы инициации IF-1, IF-2, IF-3
ГТФ	фактор элонгации EF-T <sub>u</sub>
Mg <sup>2+</sup> (3-20 мМ)	фактор элонгации EF-T <sub>s</sub>
	фактор элонгации EF-G
	фактор s терминации RF-1,RF-2,RF-3
	источники энергии: АТФ, ГТФ
	Mg <sup>2+</sup> (3-20 мМ)

Минимальная система трансляции состоит из 8 компонентов. Ее основой являются рибосомы, выделенные из кишечной палочки, в качестве матрицы можно использовать синтетические или выделенные из прокариотических клеток иРНК. Материалом для синтеза полипептида служат присоединенные к транспортным РНК (тРНК) аминокислотные остатки – молекулы аминоксил-тРНК, а источником энергии – молекулы ГТФ. Кроме того, необходимы особые белки – факторы элонгации, которые участвуют в регуляции синтеза полипептида, а также ионы магния, предотвращающие диссоциацию рибосом на субъединицы.

Полная система трансляции содержит 17 компонентов. Она работает более эффективно и способна транслировать любые матрицы, в том числе эукариотические иРНК. В ней аминокислоты не активированы, но для их активации имеются 20 видов тРНК и набор особых ферментов – аминоксил-тРНК-синтетаз, которые присоединяют аминокислоты к тРНК с затратой энергии АТФ. Дополнительно к факторам элонгации добавлены факторы инициации и терминации, которые представляют собой регуляторные белки, обеспечивающие сборку и разборку белоксинтезирующей системы. Большое значение для функционирования белоксинтезирующей системы имеет также концентрация одновалентных ионов и температура.

Вместо прокариотических можно использовать эукариотические рибосомы, например, из проростков пшеницы. Однако для ее эффективной работы необходимо заменить все прокариотические регуляторные белки на соответствующие эукариотические. При этом вместо 3 факторов элонгации используются 2 эукариотических фактора – EF-1 и EF-2, вместо трех факторов инициации используются 10 эукариотических факторов – eIF-1, eIF-2, eIF-3, eIF4A, eIF4B, eIF4C, eIF4D, eIF4E, eIF4F и eIF-5, а вместо 3 факторов терминации – эукариотический фактор терминации eRF.

Уже из краткого описания белоксинтезирующих систем видно, что эукариотическая система содержит больше регуляторных белков, причем точкой приложения большинства из них являются начальные этапы трансляции, связанные со сборкой системы.

### 1.7.3. Биосинтез белка

Биосинтез белка состоит из трех этапов – инициации, элонгации и терминации. На этапе инициации происходит сборка белоксинтезирующей системы. Она начинается с присоединения малой субъединицы рибосомы к 5'-концу иРНК. РНК-матрицы содержат копии структурных генов – рамки считывания на некотором удалении от 5'-конца. Поэтому после присоединения к иРНК малая субъединица рибосомы сканирует нуклеотидную последовательность, передвигаясь от 5'- к 3'-концу, пока не найдет начало рамки считывания – стартовый кодон. В качестве стартового кодона прокариотическая рибосома использует кодон AUG и, реже, кодоны GUG и UUG. Эукариотическая рибосома в качестве стартового кодона использует только AUG.

В таблице генетического кода кодону AUG соответствует аминокислота метионин. Однако стартовый кодон в прокариотической белоксинтезирующей системе узнается специальной инициаторной тРНК, которая связана с модифицированной формой метионина – формилметионином. Поэтому любой полипептид, синтезированный *in vitro* с помощью бактериальных рибосом начинается с аминокислоты формилметионина. Эукариотическая белоксинтезирующая система также начинает полипептид с метионина, но это отнюдь не означает, что клеточные белки на N-конце всегда имеют метионин. После завершения трансляции они, как правило, подвергаются действию ферментов, которые удаляют или модифицируют их N-конец.

После опознания стартового кодона и связывания иницирующей тРНК субъединицы объединяются в полную рибосому. Процесс формирования рибосомы идет с затратой энергии ГТФ. При этом в рибосоме происходит восстановление двух центров связывания – аминоацильного и пептидильного. Аминоацильный центр способен распознавать и связывать аминоацил-тРНК (аминокислотные остатки в комплексе с тРНК), тогда как пептидильный центр удерживает пептидил-тРНК (синтезируемый полипептид в комплексе с тРНК). В синтезе полипептида принимает участие также и третий пептидилтрансферный центр, расположенный на большой субъединице рибосомы, который катализирует образование пептидной связи.

Этап элонгации представляет собой собственно процесс синтеза полипептида в соответствии с таблицей генетического кода. Он состоит из повторяющихся стадий связывания, транспептидации и транслокации.

Перед началом следующего рабочего цикла аминоацильный центр (А-центр), расположенный в бороздке между субъединицами, содержит текущий кодон иРНК. На этой же поверхности в бороздке, но на некотором удалении от А-центра располагается пептидильный центр (Р-центр), который удерживает пептидил-тРНК. Между А-центром и Р-центром на большой субъединице располагается пептидилтрансферный центр. Свободный N-конец полипептида обычно свисает в пространство, выходя по мере его удлинения за пределы рибосомы.

Стадия связывания состоит в распознавании и удержании рибосомой «клеверного листа» аминоксил-тРНК. При этом происходит конкуренция между разными аминоксил-тРНК, но в А-центре задерживается только та молекула, антикодон которой (триплет на вершине среднего лепестка клеверного листа) комплементарен находящемуся в А-центре кодону иРНК. В связывании аминоксил-тРНК с А-центром участвует фактор элонгации EF-Tu и затрачивается энергия ГТФ.

На стадии транспептидации аминоксил-тРНК в А-центре взаимодействует с пептидил-тРНК в Р-центре таким образом, что происходит перенос С-конца полипептида из Р-центра в А-центр. При этом С-конец полипептида присоединяется к аминоксил-тРНК с образованием пептидной связи в ходе реакции, которая катализируется пептидилтрансферазным центром.

Во время стадии транслокации рибосома с участием EF-G и ГТФ, обеспечивает перенос пептидил-тРНК из А-центра обратно в Р-центр, из которого перед этим уходит свободная тРНК. Одновременно с возвратом полипептида в Р-центр происходит перемещение иРНК в направлении от 5'- к 3'-концу на один кодон.

Этап терминации наступает в тот момент, когда рибосома встретит в иРНК один из трех терминирующих кодонов – UAA, UGA или UAG. Эти кодоны не кодируют аминоксилот и служат сигналами для окончания процесса биосинтеза белка. Терминирующий кодон ограничивает рамку считывания иРНК. Иногда рамка считывания ограничивается даже двумя и более терминирующими кодонами. Когда терминирующий кодон оказывается в А-центре рибосомы, он распознается факторами терминации RF-1 и RF-2 (или eRF эукариот). Связывание факторов терминации А-центром вызывает разрыв связи между тРНК и полипептидом в Р-центре и выход белка из рибосомы. После этого из А-центра уходит фактор терминации, из Р-центра – свободная тРНК, а рибосома диссоциирует на субъединицы. Процесс разборки белоксинтезирующей системы идет с затратой ГТФ, с ним взаимодействует RF-3.

При диссоциации рибосомы малая субъединица может сканировать иРНК далее и возобновить трансляцию на следующей рамке считывания в случае полицистронных прокариотических матриц.

## **1.8. Размножение и гибель клеток**

Эукариотические клетки размножаются с помощью деления. То, что деление клеток эукариот осуществляется кроме прямого деления - амитоза еще и непрямым делением – митозом, или кариокинезом, стало известно после выхода в свет монографии немецкого цитолога В. Флемминга «Клеточная субстанция, ядро и клеточное деление» (1882). С тех пор до середины XX в. считалось, что клетка может или размножаться путем деления, или находиться в состоянии покоя, которое обозначается как интерфаза.

В 1951 году М. Говард и С. Пелк с помощью радиоактивно меченого предшественника ДНК Н<sup>3</sup>-тимидина обнаружили, что интерфаза не является состоянием покоя, поскольку в ней происходит редупликация ДНК. После этого

открытия период времени от одного деления клетки до другого стали называть клеточным циклом, имея в виду, что в интерфазе происходит подготовка клетки к делению.

Однако не всегда клетки готовятся к делению. Значительная часть клеток в организме может временно или необратимо выходить из клеточного цикла. В связи с этим возникло понятие «пролиферация клеток», под которым понимают такое состояние клетки, когда она готовится к делению или совершает его. Другими словами, пролиферирующие клетки находятся в клеточном цикле, а непролиферирующие – вышли из него.

В 1961 г. американский цитолог Л. Хейфлик обратил внимание на то, что выделенные из тканей клетки (первичные культуры клеток) после нескольких делений погибают. Число делений клеток до гибели зависит от возраста донора. Если клетки брать у эмбриона, то число делений достигает 50–70, если у новорожденного – то 20–30. Клетки, полученные от взрослого организма, могут делиться всего несколько раз. Только раковые клетки и длительно культивируемые клеточные линии (перевиваемые культуры клеток) могут делиться неограниченное число раз.

Из этих наблюдений следовало, что продолжительность жизни клеток ограничено числом делений, а их принудительная гибель находится под генетическим контролем. В 1972 г. Д. Керр подтвердил существование физиологической гибели клеток, назвав ее апоптозом. Роль апоптоза во многом противоположна роли митоза. Если с помощью митоза в организме создается необходимое количество клеток, то с помощью апоптоза из него удаляются изношенные, поврежденные или лишние клетки.

Часть клеток в организме участвует в половом размножении, образуя гаметы. Эти клетки были названы А. Вейсманом в 1892 г. клетками зародышевого пути, чтобы отличить их от всех остальных, не участвующих в образовании нового поколения соматических клеток. При образовании гамет клетки зародышевого пути переходят от деления митозом на деление мейозом. Мейоз в отличие от митоза обеспечивает редукцию диплоидного числа хромосом в гаплоидное, чтобы скомпенсировать удвоение их количества при оплодотворении.

### **1.8.1. Клеточный цикл и митоз**

Клеточным циклом (митотическим циклом) называют весь период существования клетки от ее появления в результате деления до элиминации вследствие либо деления, либо апоптоза.

Клеточный цикл подразделяется на четыре периода: пресинтетический  $G_1$ , синтетический  $S$ , постсинтетический  $G_2$  и митоз  $M$ . Периоды  $G_1$ ,  $S$  и  $G_2$  составляют в совокупности интерфазу, во время которой клетка сохраняет оформленное ядро, тогда как при делении митозом оно временно исчезает. Эта схема также подразумевает, что синтез ДНК происходит в интерфазе в ограниченный период времени, причем между ним и митозом существуют паузы.

Во время пресинтетического периода клетка активно синтезирует РНК и белки, восстанавливает органоиды, утраченные при делении, накапливает молекулы и энергию, необходимые для репликации, репарировывает повреждения

ДНК. Преобладание анаболических процессов в G<sub>1</sub>-периоде вызывает увеличение объема цитоплазмы, благодаря чему наблюдается рост клетки. Продолжительность периода G<sub>1</sub> варьирует в широких пределах. Так, например, у лимфоцитов тимуса она составляет около 3 час., в кишечном эпителии – 10 час., в печени – 48 час., в эпидермисе кожи – 64 час.. При неблагоприятных условиях продолжительность G<sub>1</sub>-периода возрастает, а при стимуляции клеток гормонами, факторами роста и митогенами – снижается.

В синтетическом периоде происходит синтез ДНК и белков хроматина, что приводит к удвоению хромосом и увеличению размеров клеточного ядра. Репликация ДНК осуществляется в геноме эукариот параллельно во многих участках – репликаонах, которым соответствуют петлевые домены хроматина. Число репликаонов зависит, прежде всего, от количества ДНК в ядре и поэтому варьирует в пределах от 1 тыс. у дрожжей до 40–60 тыс. у млекопитающих. Репликоны собраны в кластеры, которые содержат от 20 до 80 точек инициации. Все репликоны, принадлежащие данному кластеру, реплицируются одновременно.

В репликации ДНК эукариот принимает участие большое количество ферментов. Наиболее важные из них – ДНК-полимеразы, праймазы, лигазы, топоизомеразы, ДНК-азы и РНК-азы. Репликация ДНК происходит по полуконсервативному механизму, при этом в точке инициации возникают две репликативные вилки, которые двигаются в противоположных направлениях со скоростью 1–3 тыс. пар нуклеотидов в минуту. Репликация ДНК в клеточном ядре происходит закономерным образом, распространяясь от эухроматина к гетерохроматину. Позже всех реплицируется сателлитная ДНК, которая локализуется в районе первичных перетяжек хромосом – центромер.

Одновременно с репликацией ДНК в ядро поступают гистоны и другие белки хроматина, которые синтезируются рибосомами в цитоплазме. Они взаимодействуют со вновь синтезированной ДНК и воспроизводят многоуровневую структуру хроматина, существовавшую в ядре до начала репликации. К концу S-периода количество ДНК и гистонов в клеточном ядре увеличивается ровно в два раза. При этом однохроматидные хромосомы, которые остались от материнской клетки, превращаются в двуххроматидные. Это можно наблюдать непосредственно, вызывая конденсацию хромосом в интерфазе осмотическим шоком.

Продолжительность S-периода составляет для лимфоцитов тимуса 6 час., клеток кишечного эпителия – 8 час., печени – 16 час. В течение S-периода происходит также удвоение центриолей.

В постсинтетическом периоде клетка начинает непосредственную подготовку к делению. При этом в ней синтезируются тубулины, которые необходимы для формирования микротрубочек веретена деления, а также белки, участвующие в конденсации хромосом и других процессах митоза. В G<sub>2</sub>-периоде может также происходить незначительный репаративный синтез ДНК. Для этого периода клеточного цикла характерен высокий уровень посттрансляционных модификации белков, в особенности фосфорилирования и ацетилирования. Основными субстратами для соответствующих ферментов являются белки цитоскелета и ядерного матрикса. В G<sub>2</sub>-периоде происходит также активация

тканеспецифических генов. Продолжительность этого периода у разных клеток меняется мало, составляя в большинстве случаев 2–4 часа.

После окончания  $G_2$ -периода клетка приступает к делению. Митотическое деление клетки состоит из четырех фаз – профазы, метафазы, анафазы и телофазы. Переход из  $G_2$ -периода в профазу митоза сопровождается повышением вязкости цитоплазмы и округлением клеток. Одновременно наблюдаются изменения в хроматине, мелкозернистая структура которого меняется на глыбчатую. В ранней профазе в ядре более отчетливыми становятся интенсивно окрашенные теломерные участки хромосом, которые располагаются по периметру ядра у нуклеолеммы. В поздней профазе видно, что от теломерных участков к центру ядра отходят плечи хромосом.

В профазе митоза происходит расхождение двух диплосом клеточного центра в противоположные концы – полюса клетки. Между ними формируется состоящее из микротрубочек веретено деления (митотическое, или ахроматиновое веретено). Число радиально расположенных вокруг диплосом микротрубочек увеличивается, и они образуют астросферу.

В конце профазы наступает диссоциация ядрышка, а содержимое цитоплазмы и ядра сливаются в миксоплазму. Одновременно происходит разрушение пластинчатого комплекса. Продолжительность профазы составляет от 15 до 60 мин.

В начале метафазы (прометафаза, или метакинез) хромосомы перемещаются в плоскость экватора, которая располагается в середине веретена деления перпендикулярно линии, соединяющей полюса клетки. В результате образуется структура, которая называется метафазной пластинкой, или материнской звездой.

Митотические хромосомы в составе метафазной пластинки отличаются характерной морфологией. Обычно они имеют форму вытянутого цилиндра диаметром 1–2 мкм и длиной 1–50 мкм. В центре хромосомы находится первичная перетяжка, или центромера, которая делит ее на два плеча. В районе центромеры располагается прицентромерный гетерохроматин. Хромосомы с равными по длине плечами называются метацентрическими, с неравными плечами – субметацентрическими, а с очень коротким вторым плечом – акроцентрическими.

Некоторые хромосомы, кроме первичной перетяжки, имеют вторичную перетяжку. Она расположена ближе к концу хромосомы, отделяя от нее небольшой участок – спутник. В районе вторичной перетяжки локализован ядрышковый организатор, который содержит кластер генов рРНК и служит в интерфазном хроматине местом формирования ядрышка. Вторичная перетяжка окружена гетерохроматином.

Концы хромосом содержат особые участки – теломеры, которые состоят из гетерохроматина. Теломеры обеспечивают в интерфазном ядре прикрепление хромосом к нуклеолемме.

Между центромерой и теломерой с помощью методов дифференциального окрашивания в хромосомах выявляются различной ширины вставки из гетерохроматина – полосы, или бенды. Они структурируют хромосому на отдельные блоки, расположение которых видоспецифично.

Каждая митотическая хромосома состоит из двух идентичных сестринских хроматид, связанных между собой центромерой. У большинства клеток в организме хромосомы представлены двойным диплоидным набором в отличие от одинарного гаплоидного набора у гамет.

Метафазная пластинка представляет собой сложный пространственный комплекс, который состоит из центриолей, отходящих от них микротрубочек веретена деления и хромосом. Микротрубочки веретена присоединены к центромерам с помощью особых белковых структур – кинетохоров. В кинетохоре имеются три слоя – прилежащий к хромосоме плотный внутренний слой, рыхлый средний слой и плотный внешний слой. От внешнего слоя отходят многочисленные микротрубочки, образующие корону кинетохора. Белки плотного внешнего слоя CENP способны специфически связываться с сателлитной ДНК. Белки внутреннего слоя кинетохора обеспечивают соединение сестринских хроматид. В состав кинетохора входят также механохимические белки динеины, которые участвуют в перемещении хромосом по микротрубочкам. Продолжительность метафазы составляет 5–30 мин.

Переход клетки из метафазы в анафазу происходит очень быстро. При этом сестринские хроматиды в хромосомах метафазной пластинки утрачивают связь между собой и начинают синхронное движение по направлению к противоположным полюсам клетки. Скорость движения хроматид, которые теперь превратились в самостоятельные хромосомы, может достигать 2 мкм/мин. В процессе движения ориентация хромосом меняется, и, поскольку центромеры опережают теломеры, они приобретают V-образную форму.

У животных анафаза складывается из двух процессов – движения хромосом к полюсам (анафаза А) и расхождения полюсов (анафаза В). У растений расхождения полюсов не наблюдается.

Движение хромосом в анафазе связано со скольжением микротрубочек веретена и моторными функциями динеина. Оно зависит от АТФ, кальция и температуры и может блокироваться колхицином и другими веществами, которые подавляют полимеризацию микротрубочек. Анафаза – самая короткая стадия митоза, продолжительность ее варьирует от 5 до 20 мин.

Телофаза митоза в общих чертах напоминает профазу, но события в ней происходят в обратном порядке. Она начинается с остановки хромосом, которые, не меняя ориентации, начинают деконденсироваться. Одновременно происходит восстановление нуклеолеммы из мембранных пузырьков, контактирующих с боковыми поверхностями хромосом. После полной реконструкции нуклеолеммы в ядре формируются новые ядрышки. Параллельно с восстановлением клеточного ядра происходит разборка веретена деления. Она начинается у полюсов клетки и заканчивается у экватора. Сохраняющиеся некоторое время в телофазе микротрубочки веретена могут формировать остаточные тельца.

Митоз завершается цитотомией, или цитокинезом – распределением цитоплазмы между двумя дочерними клетками. У животных цитотомия обеспечивается инвагинацией плазмолеммы между двумя ядрами и формированием перетяжки. У растений цитотомия происходит путем построения дополнительной внутриклеточной перегородки. Общая продолжительность

митоза составляет обычно от 1 до 4 час.

После завершения митоза две дочерние клетки могут опять вступить в  $G_1$ -период клеточного цикла. Однако такое поведение клеток характерно только для быстрорастущих тканей и культур клеток в экспоненциальной фазе роста. В остальных случаях часть клеток после митоза переходят из клеточного цикла в состояние пролиферативного покоя –  $G_0$ . Остающиеся в цикле клетки составляют пролиферативный пул.

Величина пролиферативного пула определяется как отношение пролиферирующих клеток к общему числу клеток в популяции. Пролиферирующие клетки идентифицируются по включению радиоактивно меченых предшественников ДНК или с помощью моноклональных антител к ядерному антигену пролиферирующих клеток - PНСА. Величина пролиферативного пула отражает характер роста тканей и клеточных культур. В стабильных, не растущих и не обновляющихся клеточных популяциях, например, в мышечной и нервной тканях, величина пролиферативного пула составляет менее 1 %. В растущих или обновляющихся тканях величина пролиферативного пула варьирует в пределах от 10 до 30 %. Наиболее высокие значения пролиферативного пула характерны для быстро растущих опухолей – более 90 %.

### **1.8.2. Регуляция клеточного цикла и митоза**

Клеточный цикл регулируется как внутриклеточными, так и внеклеточными факторами. Генетический контроль цикла обеспечивается семейством генов, которые обозначаются как гены клеточного деления – *cdc* (cell division control). Продукты этих генов представляют собой киназы – ферменты, фосфорилирующие белки по определенным аминокислотам. Поэтому гены клеточного цикла могут обозначаться также *cdk* (cell division kinase). Основной принцип регуляции клеточного цикла состоит в фосфорилировании и дефосфорилировании участвующих в пролиферации структурных и регуляторных белков.

Последовательность активации киназ клеточного деления определяется циклинами – регуляторными белками, концентрация которых закономерно изменяется в клеточном цикле. Например, концентрация циклина А нарастает к концу  $G_1$ -периода и снижается по завершению S-периода, причем подавление репликации ДНК оксимочевинной не влияет на этот процесс. К настоящему времени обнаружено 12 циклинов, которые демонстрируют различную динамику концентрации в клеточном цикле. Наряду с комплексами *Cyc/Cdk* (циклин/циклинзависимая киназа) в регуляции цикла участвуют фосфатазы *PP1* и *PP2a*, которые дефосфорилируют белки, фосфорилированные ранее киназами, циклин-активирующие киназы *САК* и ингибиторы киназ *CDI*.

Важная роль в регуляции клеточного цикла принадлежит белку *p53*. Он способен узнавать специфические последовательности в ДНК и регулировать активность контролирующих пролиферацию генов. Концентрация *p53* в ядре увеличивается к концу  $G_1$ -периода, но резко снижается при переходе клетки в S-период. Если в клетке возникли повреждения ДНК, концентрация *p53* остается на высоком уровне, клетка задерживается в конце  $G_1$ -периода и не приступает к репликации ДНК до тех пор, пока повреждения не будут исправлены. Если повреждения ДНК репарировать не удалось, *p53* выключает гены, блокировавшие

апоптоз. Переход  $G_1/S$  является первой контрольной точкой клеточного цикла (точкой рестрикции R1), в которой клетка принимает решение о репликации ДНК.

Кроме R1 в клеточном цикле есть и вторая контрольная точка – R2. Она соответствует переходу  $G_2/M$ , когда клетка принимает решение о начале митоза. Главными молекулами, регулирующими начало митоза, являются фосфатаза Cdc25, а также киназы CysB/Cdk1 и weel. Фосфатаза Cdc25 способна активировать киназу CysB/Cdk1, тогда как киназа weel, наоборот, ингибирует ее. Поэтому начало митоза определяется балансом активности ферментов Cdc25 и weel.

События митоза также регулируются циклинами. В частности, циклин В (CysB) контролирует образование митотического веретена, циклин А (CysA) влияет на расхождение хроматид, а циклин В3 (CysB3) контролирует конденсацию хромосом. Для завершения митоза необходима не только определенная последовательность активации циклинзависимых киназ и фосфатаз, но также их своевременная деградация. Она контролируется APC (anaphase promoting complex) – комплексом протеаз с участием убиквитина.

Клеточный цикл регулируется также внешними по отношению к клетке молекулярными сигналами. К ним относятся гормоны, медиаторы, факторы роста, лимфокины, митогены, а также их ингибиторы.

Пролиферирующие клетки отвечают на молекулярные сигналы двух типов. Первый из них усиливает пролиферацию, вызывая переход клеток из состояния  $G_0$  в  $G_1$  и их прогрессию в клеточном цикле (так действуют многие факторы роста, например, фактор роста фибробластов ФРФ). Второй тип регуляторных белков позволяет клеткам подавлять рост их соседей (как это происходит, например, при секреции макрофагами фактора некроза опухолей ФНО).

Таким образом, в управление клеточным циклом и митозом вовлечено большое число генов. Если функция каких-либо из них утрачивается из-за мутации или нарушения экспрессии, клетки становятся нечувствительными к подавляющим их рост молекулярным сигналам, переходят в режим автономной пролиферации и могут сформировать в итоге опухоли.

### **1.8.3. Апоптоз**

Термин «апоптоз» обозначает генетически контролируемый процесс разрушения генома с последующей гибелью клетки. Гибель клеток путем апоптоза в различных клеточных популяциях имеет сходные морфологические проявления, которые разворачиваются по единому сценарию. В начале процесса клетка утрачивает микроворсинки и контакты с соседними клетками, округляется и отделяется от клеточного пласта. Одновременно в ядре наблюдается маргинация хроматина: он смещается к периферии, тогда как центральные области ядра просветляются. Затем в ядре появляются выпячивания нуклеолеммы (протуберанцы), которые заполняются гетерохроматином. В результате гетерохроматин формирует по периметру ядра скопления с четко очерченными границами. Маргинация хроматина и образование кольца из его глыбок по периферии ядра носит название кариорексис.

Параллельно изменениям ядра при апоптозе наблюдается конденсация цитоплазмы. При этом длительное время сохраняется целостность большинства цитоплазматических органоидов, в том числе лизосом и митохондрий. На более

поздних этапах апоптоза плазмолемма начинает формировать глубокие инвагинации, которые приводят к распаду клетки на гроздь апоптозных телец. В некоторых из них содержатся остатки клеточного ядра, состоящие из окруженной нуклеолеммой плотных скоплений хроматина. В дальнейшем апоптозные тельца фагоцитируются макрофагами и другими клетками. Иногда апоптозные тельца не фагоцитируются, а слущиваются в полости, кровеносное русло или почечные канальцы. Длительность апоптоза варьирует в пределах от 1 до 12 час.

В некоторых тканях отдельные морфологические проявления апоптоза могут быть выражены слабо или вообще отсутствовать. Например, у лимфоцитов маргинация хроматина приводит к формированию одного скопления в форме полумесяца. Ядра клеток при апоптозе могут сжиматься, что обозначается термином пикноз. Апоптоз в сердечных мышечных клетках происходит вообще без маргинации и конденсации хроматина. Распад клетки на апоптозные тельца также наблюдается не всегда. Несмотря на это, по комплексу морфофизиологических свойств апоптоз значительно отличается от случайной гибели клеток – некроза, для которого характерна гипертрофия ядра и цитоплазмы вследствие самопереваривания клетки лизосомальными ферментами.

Апоптоз инициируется молекулярными сигналами, которые распознаются специальными рецепторными белками на плазмолемме. Наиболее изученным примером лиганд-рецепторного комплекса, который обеспечивает запуск апоптоза у многих клеток, является пара молекул лиганд Fas – рецептор Fas (CD95). Лиганд Fas экспрессируется, главным образом, на активированных Т-лимфоцитах. Он имеет молекулярную массу 46 кД и находится в мембране в виде димера или тримера. В отличие от лиганда, рецептор Fas экспрессируется не только на Т-лимфоцитах, но и на многих других клетках. Его молекулярная масса составляет 36 кД. На цитоплазматической стороне рецептора имеется участок из 70 аминокислот, который участвует в передаче сигнала внутрь клетки – «домен смерти». Другими примерами запускающих апоптоз молекул могут служить фактор некроза опухолей (ФНО), фактор роста нервов (ФРН) и другие. Все они распознаются специфическими рецепторами, которые на цитоплазматической стороне содержат «домен смерти».

Основным процессом, происходящим в клетке при апоптозе, является деградация хроматина в клеточном ядре. Она осуществляется путем сочетанного воздействия на хроматин специфических для апоптоза ферментов. Белки хроматина при этом расщепляются цистеиновыми протеазами – каспазами, тогда как ДНК разрезается на фрагменты под действием эндогенных ДНК-аз.

К настоящему времени обнаружено более 10 каспаз. Субстратами для них являются сами каспазы, ламины, топоизомеразы, гистоны и другие белки хроматина. При запуске апоптоза через рецепторные комплексы Fas и ФНО важная роль принадлежит каспазе-1, которая является продуктом гена *ice*. Первоначально она была идентифицирована как цистеиновая протеаза, расщепляющая предшественник одного из факторов роста – интерлейкина-1-бета. Каспаза-1 синтезируется в виде неактивного предшественника с молекулярной массой 45 кД, который затем превращается в субъединицы p10 и p20. Активный фермент представляет собой тетрамер,

содержащий по две копии каждой субъединицы и атакующий пептидную связь после аспарагиновой кислоты. Активируемая каспазой-1 каспаза-3 подавляет функцию фермента, который участвует в репарации однонитевых разрывов ДНК. Одновременно каспаза-3 активирует ДНК-азу CAD (DFF40), которая разрезает ДНК между нуклеосомами. Субстратом для каспазы-6 является ламин А, который входит в состав ядерного матрикса.

Разрушение ядерной ДНК рассматривается как ключевое событие апоптоза, после которого процесс клеточной гибели становится необратимым. При этом сначала происходит образование крупных фрагментов ДНК, входящих в состав петлевых доменов хроматина. Позднее величина образующихся фрагментов снижается до 200 пар нуклеотидов, что соответствует длине ДНК, приходящейся на одну нуклеосому. Фрагментация ДНК при апоптозе представляет собой активный процесс, требующий затрат энергии, синтеза РНК и белка. В разрушении ядерной ДНК участвуют CAD, ДНК-азы I и II, а также апоптоз-активирующий фактор АИФ.

Таким образом, апоптоз представляет собой генетически запрограммированную реакцию клетки на специфический молекулярный сигнал, результатом которой является уничтожение ее генома. Апоптоз обеспечивает удаление клеток из нормально развивающихся и функционирующих тканей, не вызывая при этом повреждения соседних клеток и не запуская воспалительный процесс.

#### **1.8.4. Мейоз**

Процесс оплодотворения, который лежит в основе полового размножения организмов, заключается в слиянии мужской и женской половых клеток – гамет и формировании оплодотворенной яйцеклетки – зиготы, дающей начало новому организму. Клеточную природу яйца предполагал еще Т. Шванн, но только в 1870 г. бельгийский цитолог Э. ван Бенеден в «Исследовании о составе и значении яйца» доказал, что клеткой является все яйцо в целом, а его зародышевый пузырек представляет собой клеточное ядро. В 1875 г. О. Гертвиг, бывший в то время ассистентом в Йене, опубликовал работу «Материалы к познанию образования, оплодотворения и деления животного яйца». Прозрачные яйца иглокожих позволили ему увидеть проникновение мужского ядра из головки сперматозоида в яйцеклетку и показать, что оплодотворение состоит в слиянии женского и мужского пронуклеусов в единое ядро зиготы.

Слияние мужского и женского пронуклеусов при оплодотворении вызывает удвоение числа хромосом. Поэтому полиплоидизирующий эффект оплодотворения должен в каждом поколении компенсироваться процессом, приводящим к уменьшению числа хромосом в два раза. Таким процессом и является мейотическое деление клеток, или мейоз. У организмов с половым размножением при созревании гамет и оплодотворении происходит смена состояний клеток, которые различаются по числу хромосом. Развивающийся из зиготы организм, клетки которого содержат диплоидный набор хромосом, называется диплофазой, или диплонтом. Если организм состоит из клеток с гаплоидным набором хромосом, он называется гаплофазой, или гаплонтом.

Известно три типа мейоза, которые отличаются местом в жизненном цикле организмов, обеспечивая редукцию числа хромосом и переход либо к диплофазе, либо к гаплофазе:

1. зиготный (начальный) мейоз происходит сразу же после оплодотворения, с первыми делениями зиготы. Он обнаружен у многих водорослей и простейших. В жизненном цикле этих организмов преобладает гаплофаза, а диплофаза занимает небольшой период времени, пока существует зигота;

2. гаметный (конечный) мейоз наблюдается у животных, а также у некоторых простейших и водорослей. В этом случае мейоз происходит во время гаметогенеза, а гаплофазе соответствуют гаметы – яйцеклетки и сперматозоиды;

3. спорный (промежуточный) мейоз характерен для растений. В их жизненном цикле происходит чередование поколений спорофита, который размножается спорами, и гаметофита, который размножается половым путем с помощью гамет. Мейоз происходит в клетках диплоидного спорофита в процессе спорогенеза, в результате которого образуются споры с гаплоидным числом хромосом. Они развиваются без оплодотворения в гаметофит, продуцирующий гаметы, слияние которых в зиготу опять дает начало диплоидному спорофиту. Таким образом, у растений спорофит соответствует диплофазе (диплонт), а гаметофит – гаплофазе (гаплонт).

Несмотря на различное место мейоза в жизненном цикле растений, животных, простейших и других организмов его морфологические проявления однотипны у всех эукариот. Мейоз состоит из двух последовательных клеточных делений, которые напоминают митоз. Первое деление мейоза (мейоз I) обеспечивает редукцию числа хромосом в два раза и называется редукционным. Второе деление (мейоз II) превращает сестринские хроматиды в самостоятельные хромосомы аналогично митозу и называется эквационным (выравнивающим).

Перед началом мейоза клетка проходит все периоды клеточного цикла –  $G_1$ , S и  $G_2$ . Предмейотическая интерфаза имеет, однако, особенности, которые связаны с подготовкой клетки к мейозу. В частности, в предмейотической интерфазе обнаружены изменения состава гистонов и других белков хроматина, не характерные для митотической интерфазы.

Каждое из двух делений мейоза состоит из четырех последовательных фаз - профазы, метафазы, анафазы и телофазы. Между двумя делениями мейоза клетка некоторое время находится в состоянии, внешне сходном с интерфазой, но оно не сопровождается удвоением ДНК. Пауза между мейозом I и II обозначается как интеркинез.

Наиболее длительной фазой мейоза является профаза I. Именно в ней происходят процессы, обеспечивающие редукцию числа хромосом. Профазу I подразделяют на пять стадий:

- лептотену, или стадию тонких нитей;
- зиготену, или стадию слияния нитей;
- пахитену, или стадию толстых нитей;
- диплотену, или стадию двойных нитей;
- диакинез, или стадию расхождения нитей.

Лептотена внешне напоминает раннюю профазу митоза. Однако в отличие от профазы митоза хромосомы на стадии лептотены значительно тоньше и длиннее, что не позволяет различить в них сестринские хроматиды. По всей длине мейотических хромосом располагаются небольшие утолщения – хромомеры. Число, размеры и расположение хромомеров специфично для каждой хромосомы. Количество хромомеров видоспецифично: у тритона их около 2500, у сверчка – около 200, у риса – 645.

Мейотические хромосомы располагаются в объеме ядра закономерным образом, контактируя теломерами с нуклеолеммой. У отдельных животных они могут формировать структуру, напоминающую букет. Такая структура состоит из сближенных между собой дугообразно изогнутых хромосом, связанных теломерными концами с ограниченным участком нуклеолеммы. У некоторых растений хромосомы в конце лептотены собираются в клубок, что обозначается термином «синезис». В лептотене начинается процесс конъюгации гомологичных хромосом – синапсис. Он заключается в сближении гомологичных хромосом диплоидного набора в пространстве ядра. При этом хромомеры одной гомологичной хромосомы оказываются напротив соответствующих хромомеров другой гомологичной хромосомы.

Зиготена отличается от лептотены формированием комплексов конъюгирующих хромосом – бивалентов. Каждый бивалент состоит из четырех хроматид – двух сестринских и двух несестринских. Сестринские хроматиды связаны в биваленте центромерами, а несестринские хроматиды соединяются особой белковой структурой – синаптонемальным комплексом.

Синаптонемальный комплекс имеет ширину 160–240 нм и состоит из трех слоев: два одинаковых латеральных слоя толщиной по 30–60 нм располагаются на расстоянии 60–120 нм друг от друга, а между ними находится центральный элемент толщиной 10–40 нм. Латеральные слои контактируют с несестринскими хроматидами. Формирование бивалента начинается на теломерных концах хромосом, связанных с нуклеолеммой, а также в центромерных районах. Затем объединяются и остальные участки двух гомологичных хромосом. Образование синаптонемального комплекса происходит при сближении хромосом на расстоянии около 100 нм, причем структурные компоненты его взаимодействуют между собой наподобие застёжки «молния».

В зиготене синтезируется небольшое количество ДНК (z-ДНК), которая состоит из распределенных по всей длине хромосом уникальных последовательностей длиной 5–10 тыс. пар нуклеотидов. У соматических клеток z-ДНК, составляющая около 0,3 % всей ДНК клетки, реплицируется совместно с остальной ДНК в S-периоде клеточного цикла. Подавление синтеза ДНК в зиготене приводит к отмене конъюгации гомологичных хромосом. Предполагается, что z-ДНК участвует во взаимном распознавании гомологичных хромосом при формировании бивалента.

Пахитена отличается максимальной конденсацией хромосом в составе бивалента. При этом они становятся настолько короткими и толстыми, что бивалент можно принять за одну хромосому. Число пахитенных

хромосом-бивалентов равно гаплоидному числу хромосом данного вида. Иногда пахитенные хромосомы могут закручиваться относительно друг друга (соотносительное закручивание).

В пахитене начинается процесс взаимного обмена участками между гомологичными хромосомами – кроссинговер. Поскольку одна из гомологичных хромосом в биваленте происходит от матери, а вторая – от отца, в ходе кроссинговера происходит формирование генетически новых вариантов хромосом, сочетающих в себе аллели обоих родителей. В результате кроссинговера мейоз будет порождать кроссоверные гаметы, которые увеличивают наследственную изменчивость потомства. В пахитене наблюдается незначительный репаративный синтез ДНК.

Пахитенные хромосомы часто имеют опушенность, которая связана с деконденсацией некоторых хромомеров. Деконденсация хромомеров на стадии пахитены является морфологическим проявлением активации генов, контролирующих дифференцировку гамет.

Диплотена называется так потому, что на этой стадии начинается отталкивание гомологичных хромосом друг от друга, и они становятся различимы в составе бивалента. Отталкивание хромосом начинается в центромерных районах и распространяется вдоль бивалента. При этом становятся заметными места взаимного перекреста гомологичных хромосом – хиазмы.

В диплотене хромосомы еще больше конденсируются, в результате чего в биваленте происходит обособление хроматид. В микроскопе видно, что в образовании хиазм вовлекаются только две хроматиды из четырех. При отталкивании хромосом происходит деструкция синаптонемального комплекса, его участки сохраняются только в хиазмах.

На стадии диплотены в ооцитах амфибий и насекомых хромосомы приобретают вид «ламповых щеток». Поверхность хромосом этого типа покрыта петлями из хроматиновых нитей, которые выходят из хромомеров. На петлях хроматина транскрибируется большое количество долгоживущей иРНК, которая используется для синтеза белков, необходимых на ранних этапах эмбриогенеза.

Диакинез принципиально не отличается от диплотены. В нем происходит дальнейшее уменьшение числа хиазм, укорочение бивалентов и растворение ядрышек. Биваленты удаляются друг от друга, располагаясь по периферии ядра. В конце диакинеза гомологичные хромосомы остаются скрепленными в биваленте только терминальными хиазмами. При этом биваленты образуют характерные фигуры в форме крестов, колец, восьмерок или коротких скрученных веревок в зависимости от длины хромосомы и числа хиазм. Диакинез завершается образованием веретена деления и распадом нуклеолеммы.

Метафаза I начинается с перемещения бивалентов в экваториальную плоскость веретена деления. При этом они ориентируются таким образом, что центромеры гомологичных хромосом обращены к противоположным полюсам клетки. Метафаза I мейоза принципиально отличается от метафазы митоза тем, что в плоскости экватора расположены спаренные хромосомы, повернутые на 90° относительно своей оси.

В анафазе I хромосомы перемещаются к полюсам клетки. Однако в отличие от митоза к полюсам расходятся не сестринские хроматиды, а гомологичные хромосомы. Сестринские хроматиды при этом по-прежнему скреплены центромерами. Расхождение гомологичных хромосом в анафазе I происходит случайно, и хромосомы бивалента с равной вероятностью могут отойти к тому или иному полюсу. Это обеспечивает все возможные сочетания материнских и отцовских хромосом в гаметах.

В телофазе I хромосомы достигают полюсов клетки, причем у каждого полюса оказывается гаплоидное число хромосом. В дальнейшем в телофазе I мейоза происходят процессы, аналогичные телофазе митоза – деконденсация хромосом, восстановление нуклеолеммы, образование ядрышек и цитокinesis. На этом редукционное деление мейоза (мейоз I) заканчивается.

Интеркинез, разделяющий первое и второе деления мейоза, отличается от обычной интерфазы отсутствием репликации ДНК. Иногда в интеркинезе хромосомы остаются в конденсированном состоянии, сохраняя свои морфологические особенности.

Эквационное деление мейоза (мейоз II) протекает сходно с митозом, но на гаплоидном уровне. После непродолжительной профазы и растворения нуклеолеммы двуххроматидные хромосомы формируют митотическую фигуру. На стадии анафазы сестринские хроматиды становятся свободными хромосомами и отходят к полюсам клетки. События в телофазе протекают как в митозе, завершаясь цитокinesis. Таким образом, мейотическое деление одной клетки с диплоидным набором хромосом обеспечивает образование четырех клеток с гаплоидным набором хромосом. Их дальнейшая судьба зависит от типа мейоза, который характерен для данного вида. При наиболее распространенном гаметном типе порождаемые мейозом клетки дифференцируются в гаметы.

Редукция числа хромосом представляет собой основной, но не единственный результат мейоза. Большое значение для биологии вида имеет также создаваемая мейозом комбинаторная наследственная изменчивость, которая возникает благодаря случайному распределению родительских хромосом по гаметам и кроссинговеру.

## **1.9. Эпителиальные ткани**

Согласно определению А. А. Заварзина ткань – это филогенетически обусловленная система гистологических элементов (клеток и межклеточного вещества), объединенных общей структурой, функцией и происхождением. В соответствии с этим определением критериями классификации тканей являются особенности их строения, функциональной специализации и происхождения в онтогенезе и филогенезе.

Первая классификация тканей была предложена Л. Лейдигом в монографии «Анатомические и гистологические исследования над рыбами и рептилиями» (1853). С некоторыми изменениями она используется и поныне. Согласно этой классификации все ткани подразделяются на четыре группы:

1. эпителиальные ткани – занимают пограничное положение в организме и обеспечивают обмен со средой;

2. ткани внутренней среды – формируют опорные структуры и поддерживают гомеостаз;

3. мышечные ткани – обеспечивают сокращение и движение органов и всего организма;

4. ткани нервной системы – получают информацию из внешней и внутренней среды, сохраняют ее и вырабатывают управляющие сигналы для мышц и других органов.

Существуют также и другие классификации тканей. Например, Н. Г. Хлопин разработал гистогенетическую классификацию тканей (1946), основываясь на их онтогенезе и способности к метаплазии – переходу одного вида ткани в другой. Принципиально иную классификацию предложил в 1964 г. Ш. Леблон, который использовал результаты исследований пролиферативной активности тканей. В соответствии с ней ткани подразделяются на три группы:

1. статические ткани, в которых клетки практически не делятся (нервная ткань);

2. растущие ткани, в которых количество клеток в онтогенезе постепенно возрастает (ткань печени);

3. обновляющиеся ткани, в которых постоянно идет процесс физиологической регенерации на клеточном уровне (эпителии, кровь).

Классификацию тканей по особенностям их к репаративной регенерации разработал Д. С. Саркисов (1970). Органы значительно различаются по способности восстанавливать свою структуру и функции. Некоторые из них, вероятно, вообще не способны восстанавливаться, другие восстанавливаются за счет размножения малодифференцированных клеток. В последние годы возможности репаративной регенерации тканей связывают со стволовыми клетками взрослого организма ASC (adult stem cells). В 2000 г. были клонированы гены, контролирующие дифференцировку клеток крови из стволовой кроветворной клетки. Можно надеяться поэтому, что в ближайшем будущем будут разработаны новые классификации тканей, основанные на генетических программах дифференцировки стволовых клеток.

### **1.9.1. Общая характеристика эпителиев**

Эпителиальные ткани отличаются:

1. пограничностью, формируя наружные покровы и стенки внутренних полостей;

2. отсутствием межклеточного вещества. Эпителиальные клетки, как правило, плотно прилегают друг к другу;

3. полярностью клеток, которая заключается в структурно-функциональных различиях их апикальной и базальной сторон;

4. наличием базальной пластинки (базальной мембраны), которая служит опорой для клеточного пласта. Она состоит в основном из белка коллагена и образуется при взаимодействии эпителия с подлежащей соединительной тканью;

5. происхождением в онтогенезе из эктодермы и энтодермы;

6. способностью к репаративной регенерации. Эпителии взрослого организма имеют собственные стволовые клетки и постоянно обновляются;

7. диффузным питанием и дыханием. Кровеносные и лимфатические сосуды и капилляры в эпителии отсутствуют.

Наиболее употребительной является морфологическая классификация эпителиев, основы которой были разработаны еще Я. Генле (1842) (таблица 4). В соответствии с морфологической классификацией эпителии подразделяются на три типа: однослойные, многослойные и переходный эпителий. У однослойных эпителиев все клетки контактируют с базальной пластинкой. У многослойных эпителиев, напротив, только один ряд клеток базального слоя контактирует с базальной пластинкой, тогда как остальные клетки формируют многорядный пласт, прочно соединяясь между собой межклеточными контактами. Отдельную ткань представляет переходный эпителий, который может выглядеть как многослойный или однослойный в зависимости от функционального состояния.

Таблица 4 – Морфологическая классификация эпителиев.

Однослойный		Многослойный	Переходный
Однорядный	Многорядный		
	Плоский	Ороговевающий	
	Кубический	Неороговевающий	
	Цилиндрический		
	Каемчатый		
	Реснитчатый		

Однослойные эпителии берут свое начало в онтогенезе из энтодермы. Поэтому почти весь желудочно-кишечный тракт покрыт эпителием этого типа. Многослойный эпителий образует в основном внешние покровы тела, источником развития его является эктодерма. Граница между производными экто- и энтодермы у взрослого организма проходит в нижней части пищевода, а также в начале прямой кишки. Эту границу можно наблюдать на препарате «Переход пищевода в желудок» из набора по частной гистологии.

Однослойный эпителий характерен также для воздухоносных путей. Однако в этом случае клетки более дифференцированы между собой и их ядра находятся на различной высоте по отношению к базальной пластинке. Поэтому такой эпителий называется многорядным в отличие от однорядного эпителия кишечника.

Важным критерием морфологической классификации эпителиев является форма клетки. По этому признаку эпителии подразделяют на плоские, кубические и цилиндрические (призматические). Плоскую форму имеют, в частности, клетки мезотелия, который покрывает изнутри плевральную и перитонеальную полости. Поэтому мезотелий классифицируют как плоский однослойный однорядный эпителий. Мезотелий отличается от других эпителиев еще и тем, что развивается из несегментированной мезодермы (спланхнотома). Плоским называют также

многослойный эпителий кожи (эпидермис), поскольку клетки его верхних слоев представляют собой уплощенные роговые чешуи.

Клетки кубического эпителия имеют изометрическую форму. Эпителий этого типа выстилает, например, почечные канальцы. Кубический однослойный однорядный эпителий почек может быть низким (клетки одинаковые по высоте и ширине) и высоким (высота клетки несколько больше ее ширины). Если же высота клетки значительно больше ее ширины, эпителий называют цилиндрическим или призматическим. К этому типу относится, например, эпителий тонкого кишечника.

В морфологической классификации используют также и другие структурные особенности клеток, в частности наличие ресничек и микроворсинок. Например, эпителий воздухоносных путей имеет реснички и называется реснитчатым, а эпителий тонкого кишечника с многочисленными микроворсинками – каемчатым.

Многослойный эпителий в морфологической классификации представлен двумя типами: ороговевающим (эпидермис кожи) и неороговевающим (роговица глаза, слизистая ротовой полости, пищевод, прямая кишка). Полное наименование эпидермиса кожи будет поэтому «плоский многослойный ороговевающий эпителий», а роговицы глаза – «плоский многослойный неороговевающий эпителий».

Отдельно в морфологической классификации рассматривается эпителий мочевого пузыря, мочеточников и почечных лоханок. Взаимное расположение клеток в нем зависит от степени растяжения стенки органа: в нерастянутом состоянии он выглядит как многослойный, а в растянутом – как однослойный. Поэтому он был назван переходным эпителием. Позднее с помощью электронного микроскопа было обнаружено, что все клетки переходного эпителия контактируют с базальной пластинкой, и его следовало бы считать однослойным. Источником развития переходного эпителия является мезодерма (нефротом).

Морфологическая классификация эпителиев удачно дополняется гистогенетической классификацией Н. Г. Хлопина. Эта классификация учитывает, что свойства эпителиев могут быть не только у тканей эктодермального и энтодермального происхождения, но также и у производных мезодермы. Согласно гистогенетической классификации эпителиальные ткани подразделяют на пять типов:

1. эпидермальные (производные эктодермы: эпидермис кожи, роговица глаза, эпителий прямой кишки и др.);
2. энтеродермальные (производные энтодермы: кишечные эпителии, пищеварительные железы);
3. цело-нефродермальные (развиваются из нефротомы – участка мезодермы: переходный эпителий, эпителий почек и гонад, мезотелий);
4. эпендимо-глиальные (образуются из нервной трубки и дают эпендимную глию, которая выстилает стенки спинномозгового канала и желудочков мозга);
5. ангиодермальные (источником является диффузная мезодерма – мезенхима, клетки образуют внутреннюю выстилку сосудов, капилляров и эндокарда).

### 1.9.2. Эпителий кишечника

Однослойный цилиндрический каемчатый эпителий покрывает тонкий кишечник и двенадцатиперстную кишку. В этих отделах желудочно-кишечного тракта осуществляется внутриполостное и пристеночное переваривание пищи. Поверхность тонкого кишечника представлена складками, состоящими из выпячиваний – ворсинок и углублений – крипт. В слизистой тонкого кишечника наблюдается регулярное чередование ворсинок и крипт. Профиль базальной пластинки повторяет конфигурацию поверхности эпителия. Под базальной пластинкой находятся соединительная ткань, кровеносные и лимфатические капилляры, скопления лимфоидной ткани.

В однослойном эпителии тонкого кишечника различают четыре типа зрелых функционирующих клеток:

- 1) столбчатые (всасывающие);
- 2) бокаловидные (слизистые);
- 3) энтерохромоаффинные (энтероэндокринные);
- 4) панетовские.

Столбчатые энтероциты составляют подавляющее большинство клеток ворсинки и крипты. С их участием осуществляется пристеночное пищеварение и всасывание питательных веществ из просвета кишечника в кровь и лимфу. Отличительными признаками столбчатых клеток являются микроворсинки, гликокаликс и межклеточные контакты.

Микроворсинки представляют собой выросты апикальной плазмолеммы энтероцита. Они имеют диаметр 100 нм и длину до 3 мкм. Внутри микроворсинки продольно располагается пучок, состоящий из актиновых нитей. У основания микроворсинки нити актина вплетены в терминальную сеть. Актино-миозиновые комплексы микроворсинок регулируют их высоту и тем самым площадь апикальной поверхности, которая при активном всасывании возрастает в несколько раз. На один зрелый энтероцит приходится до 1000 микроворсинок.

Гликокаликс располагается на поверхности микроворсинок в виде густой сети гликопротеидов. В нем фиксированы ферменты, участвующие в пристеночном пищеварении углеводов, белков и липидов, а также белки, обеспечивающие трансмембранный транспорт их мономеров. Гликокаликс совместно с микроворсинками образует на поверхности кишечного эпителия щеточную каемку, поэтому эпителий кишечника часто называют каемчатым.

Клетки однослойного эпителия прочно связаны с базальной пластинкой. В световом микроскопе базальная пластинка выявляется как граница между эпителием и подлежащей соединительной тканью, но сама непосредственно не видна. В электронном микроскопе видно, что она имеет толщину около 100 нм и состоит из двух слоев: светлого подэпителиального толщиной 40 нм и сетчатого толщиной 60 нм. Светлый слой содержит углеводы, белки, большое количество ионов кальция. Сетчатый слой состоит из коллагена и гликозаминогликанов. Базальная пластинка является продуктом взаимодействия эпителия с соединительной тканью.

Столбчатые клетки составляют более 90 % всех клеток кишечного эпителия, выстилающая поверхность ворсинки. На втором месте по численности в тонком

кишечнике стоят бокаловидные клетки, которые выполняют секреторные функции. Выделяемая ими в просвет кишечника слизь содержит белки и углеводы, обеспечивающие механическую защиту энтероцитов, а также создающие оптимальные условия для работы пищеварительных ферментов. Эти клетки отличаются более тонкой базальной частью, в которой располагаются клеточное ядро, плазматическая сеть, митохондрии, пластинчатый комплекс и другие органоиды, и расширенной апикальной частью, содержащей различного размера пузырьки со слизью. Как свидетельствуют результаты авторадиографического исследования, белковый компонент слизи синтезируется на мембранах плазматической сети, тогда как углеводный компонент образуется в пластинчатом комплексе. Сформировавшиеся в пластинчатом комплексе пузырьки со слизью отделяются от этого органоида и перемещаются к апикальной поверхности клетки, где сливаются с плазмолеммой и выводят слизь наружу.

В эпителии тонкого кишечника обнаруживаются также энтерохромоаффинные (энтероэндокринные) клетки. От других энтероцитов они отличаются аргирофильными секреторными гранулами, локализованными в базальной части клетки. Энтерохромоаффинные клетки синтезируют и выделяют ряд гормонов и других биологически активных веществ – энтеринов, которые регулируют функции пищеварительной системы, а также оказывают влияние на трофику других физиологических систем организма.

Самые малочисленные из всех энтероцитов клетки Панета никогда не покидают дна крипты. Они содержат крупные гранулы в апикальной части клетки, которые содержат интерфероны и другие белки, обеспечивающие функции местного иммунитета.

Клетки эпителия кишечника постоянно обновляются. Время жизни большинства энтероцитов не превышает 3–4 суток. Столь высокие темпы физиологической регенерации обеспечиваются постоянной пролиферацией стволовых клеток, которые локализованы в стенке крипты. Клетки Панета дифференцируются сразу же после деления стволовых клеток и смещаются ко дну крипты. Эти клетки делятся очень редко. Предшественники энтерохромоаффинных клеток делятся два раза, смещаясь в сторону ворсинки. Бокаловидные клетки образуются после трех делений, а столбчатые клетки – после четырех делений, также смещаясь к вершине ворсинки. На вершине ворсинки все три типа клеток погибают путем апоптоза и слущиваются в просвет кишечника.

Гистофизиологию эпителия тонкого кишечника можно рассмотреть также с позиций теории дифферона. Дифферон – это клеточный клон, образованный стволовой клеткой. В эпителии тонкого кишечника одна его граница совпадает с дном крипты, где расположены клетки Панета, а другая – с вершиной ворсинки, где погибают энтероциты. Началом дифферона будет стенка крипты, где локализованы стволовые клетки. Дифферон тонкого кишечника стабилен, он постоянно воспроизводится за счет деления недифференцированных клеток. Этот же тип дифферона характерен и для других отделов желудочно-кишечного тракта. Если сравнить, например, тонкий и толстый кишечник, то, несмотря на определенные различия, вполне просматривается общность структурно-функциональной организации этих тканей. Поверхность толстого кишечника

гладкая, без ворсинок, внешне не похожая на тонкий кишечник. Она покрыта столбчатыми клетками, которые хотя и обладают сходством с аналогичными клетками тонкого кишечника, отличаются меньшим количеством микроворсинок. Функция этих клеток состоит во всасывании воды. Количество бокаловидных клеток в толстом кишечнике увеличено. Они сконцентрированы в глубоких складках, образуя выделяющие слизь либеркюновы железы. Усиленная продукция слизи толстым кишечником необходима для формирования каловых масс. Таким образом, эпителий толстого кишечника также состоит из дифферонов кишечного эпителия, но по сравнению с тонким кишечником они несколько видоизменены в связи с их иной функциональной специализацией.

### 1.9.3. Эпидермис

Кожа образована эпителием и подлежащей соединительной тканью. Эпителиальная часть кожи – эпидермис – представляет собой плоский многослойный ороговевающий эпителий. В эпидермисе выделяют пять слоев клеток в направлении от базальной пластинки к поверхности:

1. базальный слой, состоящий из одного ряда делящихся клеток цилиндрической формы;
2. шиповатый слой, образованный 4–8 рядами делящихся клеток крыловидной формы;
3. зернистый слой из 3–4 рядов уплощенных неделящихся клеток с гранулами;
4. блестящий слой из 1–2 ряда сильно уплощенных погибающих клеток;
5. роговой слой, состоящий из многих рядов плоских мертвых клеток.

Базальный слой располагается непосредственно на базальной пластинке. В цитоплазме клеток базального слоя обнаруживаются тонофиламенты, митохондрии, пластинчатый комплекс, ядра с крупными ядрышками и мелкодисперсным хроматином. Пальцевидные выросты базальной поверхности клеток вдаются в базальную пластинку, заканчиваясь гемидесмосомами. Клетки этого слоя интенсивно пролиферируют, причем их потомство смещается в вертикальном направлении. В базальном слое находятся стволовые клетки эпидермиса, обладающие способностью к самоподдержанию.

Шиповатый (крылатый, остистый) слой образован клетками неправильной формы, имеющими крыловидные отростки. Отростки заканчиваются десмосомами, которые прочно скрепляют клетки между собой. Цитоплазма клеток богата органоидами, многочисленные тонофиламенты собраны в пучки – тонофибриллы. Клетки этого слоя еще способны делиться, поэтому его вместе с базальным слоем объединяют в единый ростковый слой.

Зернистый слой состоит из клеток уплощенной формы, также соединенных между собой десмосомами. В цитоплазме хорошо видны базофильные гранулы кератогиалина величиной до 1 мкм, которые содержат профиллагрин, необходимый для последующей агрегации кератиновых тонофибрилл. Клеточные ядра клеток зернистого слоя отличаются пикнотичностью и уже не способны делиться.

Блестящий слой обнаруживается только в коже ладоней и подошв. Он образован сильно уплощенными клетками, которые заполнены предшественником

кератина – элеидином. Органоиды в цитоплазме этих клеток деградируют, а ядра подвергаются кариорексису, что свидетельствует о развитии процессов клеточной гибели.

Роговой слой эпидермиса представлен многочисленными роговыми чешуями, которые обеспечивают физическую и химическую защиту организма. Роговые чешуи – это не что иное, как плоские мертвые, лишенные ядра эпителиальные клетки, около 80 % массы которых составляют промежуточные филаменты из белка кератина. Клетки в толще рогового слоя еще прочно скреплены между собой десмосомами, однако по мере приближения к поверхности клеточный пласт разрыхляется под воздействием выделяющихся в межклеточное пространство лизосомальных ферментов. Одновременно клетки теряют до 70 % собственной массы из-за высыхания. Десквамация (слущивание) роговых чешуй обеспечивает защитные функции эпидермиса.

Эпидермис отличается интенсивной физиологической регенерацией, полностью обновляясь через неделю. Этот процесс обеспечивается постоянным делением стволовых клеток и коммитированного потомства в ростковом слое, дальнейшей дифференцировкой неделящихся клеток зернистого слоя и их гибелью при переходе к роговому слою. Особенностью эпидермиса как ткани является то, что основную нагрузку принимают на себя мертвые клетки, которые, однако, находятся под контролем живых клеток нижележащих слоев.

Очевидно, что дифферон многослойного эпителия является более сложным по сравнению с диффероном кишечного эпителия. Недаром многослойный эпителий имеется только у позвоночных животных. Мягкий гидролиз белков десмосом эпидермиса позволяет выделить его диффероны, которые напоминают перевернутые пирамиды. В отличие от однослойного эпителия лишь незначительная часть клеток дифферона этого типа непосредственно связана с базальной пластинкой. Остальные клетки формируют клеточный пласт с помощью десмосом и других межклеточных контактов, что требует высокой координации их пролиферации и дифференцировки.

Другой формой многослойного эпителия является многослойный неороговевающий эпителий роговицы глаза. В отличие от эпидермиса этот эпителий имеет три слоя:

1. базальный слой, сходный с базальным слоем эпидермиса;
2. шиповатый слой, который отличается полигональной формой клеток и диффузным расположением кератиновых тонофиламентов, не образующих пучки;
3. поверхностный слой, состоящий из уплощенных гибнущих клеток, которые постоянно удаляются путем десквамации.

Сходную структуру имеют многослойный неороговевающий эпителий полости рта, глотки, пищевода, влагалища и других органов эктодермального происхождения.

#### **1.9.4. Железистый эпителий**

Железы представляют собой органы, которые синтезируют и выделяют различные вещества, необходимые для жизнедеятельности организма. Большинство желез образовано эпителиальной тканью – железистым эпителием.

Исключение составляют мозговой слой надпочечников, задняя доля гипофиза и эпифиз, паренхима которых имеет нейрогенное происхождение.

Железистые клетки – гландулоциты – являются высокоспециализированными клетками, которые специализируются на синтезе, накоплении и выведении секрета. Ядро гландулоцитов, как правило, крупное, имеет одно или несколько ядрышек. Цитоплазма содержит многочисленные органоиды; особенно хорошо развит пластинчатый комплекс. Характер развития органоидов зависит от химической природы синтезируемых веществ. Распределение органоидов в цитоплазме неравномерно, клетки отличаются выраженной полярностью. Процесс синтеза, накопления и выделения секрета гландулоцитом обозначается как секреторный цикл. Он состоит из четырех фаз: поглощения исходных веществ, синтеза компонентов, накопления продукта и его выведения. Фаза поглощения обеспечивается транспортными системами, которые связаны с плазмолеммой базальной части клетки. В большинстве случаев исходные вещества поступают непосредственно из крови, но иногда они могут запасаться в цитоплазме гландулоцита. Фаза синтеза связана с деятельностью шероховатой и гладкой плазматической сети, пластинчатого комплекса и митохондрий. Синтезированный продукт накапливается в пластинчатом комплексе, где происходит его созревание и упаковка в одномембранные пузырьки. Фаза накопления состоит в появлении в цитоплазме гландулоцита секреторных гранул, которые укрупняются, сливаясь между собой. Фаза выведения обычно заключается в экзоцитозе секреторных гранул или вакуолей (экструзии), однако продукты могут выводиться и диффузно.

Наиболее короткой является фаза поглощения, она протекает не более 5 мин. Продолжительность фаз синтеза и накопления составляет около 10–15 мин. Самой продолжительной является фаза выведения, которая занимает 30 мин. Общее время секреторного цикла составляет около одного часа.

Железистый эпителий образует органы двух типов:

- экзокринные железы, которые выделяют секрет на поверхность тела или в просвет внутренних органов;
- эндокринные железы, которые выводят продукт (инкрет, или гормон) в кровь.

Экзокринные железы имеют концевые (секреторные) отделы и выводные протоки. Концевой отдел (ацинус) экзокринной железы состоит из железистых клеток, которые в один или несколько слоев располагаются на базальной пластинке и продуцируют секрет. Выводной проток также состоит из эпителиальных клеток, растущих на базальной пластинке, но они обычно не секретируют, а обеспечивают связь концевой отдела с покровным эпителием.

В морфологической классификации экзокринных желез (таблица 5) используются такие их признаки как форма концевых отделов (трубчатая, альвеолярная, трубчато-альвеолярная), ветвление концевой отдела (разветвленный и неразветвленный), ветвление выводного протока (простая и сложная железы).

Таблица 5 – Морфологическая классификация экзокринных желез.

Железа	Тип по морфологической классификации
Сальная железа	Простая неразветвленная альвеолярная
Потовая железа	Простые неразветвленная трубчатые
Слюнная железа	Сложная разветвленная альвеолярная
Поджелудочная железа	Сложная альвеолярная
Молочная железа	Сложная альвеолярно-трубчатая

Кроме морфологической классификации экзокринные железы подразделяют также на группы в зависимости от количества клеток (одноклеточные, малоклеточные и многоклеточные), расположения относительно эпителиального пласта (экзоэпителиальные и эндоэпителиальные), состава секрета (белковые, слизистые, белково-слизистые, липидные, кислотные). Экзокринные железы классифицируют также по типу секреции:

1. голокриновый тип, при котором происходит гибель и разрушение glanduloцита (сальная железа);
2. макроапкриновый тип, при котором наблюдается утрата материала апикального конца клетки (молочная железа);
3. микроапкриновый тип, который отличается отрывом расширенных вершин микроворсинок (хориоидное сплетение в третьем желудочке мозга);
4. мерокриновый (эккриновый) тип, при котором не наблюдается явных изменений морфологии glanduloцитов (большинство желез).

В качестве примера приведем краткую морфо-функциональную характеристику сальной, поджелудочной (экзокринная часть) и молочной желез. Сальная железа находится рядом с волосом. Она состоит из небольшого количества расположенных на базальной пластинке клеток, которые делятся, синтезируют секрет и разрушаются. Ее единственный проток впадает во влагалище волоса. Клеточный детрит содержит жироподобный секрет, необходимый для смазывания роговых чешуй. Тип секреции – голокриновый.

Экзокринная часть поджелудочной железы состоит из многочисленных долек, стенки которых образованы крупными клетками однослойного эпителия, расположенного на базальной пластинке. В базальной части glanduloцита поджелудочной железы находится большинство органоидов, тогда как в апикальной части локализованы гранулы зимогена (комплекса пищеварительных ферментов). Гранулы путем экструзии выходят в просвет дольки и по протокам достигают кишечника. Тип секреции – мерокриновый.

Молочная железа выделяет секрет сложного состава, который содержит много липидов, специфических белков, сахаров и неорганических веществ, особенно кальция. Она состоит из тяжелой эпителиальных клеток, располагающихся между прослойками соединительной ткани. Glanduloциты молочной железы крупные, с большим ядром, развитой плазматической сетью и пластинчатым комплексом. Во время лактации от апикальной части glanduloцитов отрываются пузырьки различного размера. Тип секреции – макроапкриновый.

Эндокринные железы в отличие от экзокринных не имеют выводных протоков, представляя собой группы эпителиальных клеток, оплетенных кровеносными капиллярами. Эндокринные железы синтезируют и выделяют в кровь гормоны (инкреты), которые представляют собой биологически активные вещества, регулирующие многие жизненно важные функции организма.

Эндокринные железы имеют различное строение. Они могут быть представлены отдельными клетками (например, энтерохромаффинные клетки кишечного эпителия, которые в совокупности образуют диффузную эндокринную систему) или органами различной величины (гипофиз, надпочечники, щитовидная железа). Особенности гистологии эндокринных желез можно рассмотреть на примере трех органов: передней доли гипофиза, островков поджелудочной железы и щитовидной железы.

Гипофиз – это эндокринная железа шаровидной формы, которая связывает головной мозг и эндокринные железы в единую систему. Он состоит из трех долей: передней, промежуточной и задней. Передняя доля (аденогипофиз) состоит из соединительно-тканной оболочки и тесно прилежащих эпителиальных клеток, которые оплетены кровеносными капиллярами. При окраске гематоксилин-эозином в аденогипофизе выделяют три типа клеток: оксифильные, базофильные и хромофобные. Оксифильные и базофильные клетки синтезируют и накапливают пептидные гормоны, которые концентрируются в секреторных гранулах диаметром 20–100 нм. При этом каждая клетка секретирует только один тип гормона. Хромофобные клетки не содержат гранул с гормонами и находятся вне секреторного цикла.

Аденогипофиз координирует деятельность всех других эндокринных желез. Он секретирует в кровь такие гормоны как соматотропин (СТГ, или гормон роста – усиливает анаболические процессы), аденокортикотропин (АКТГ - усиливает катаболические процессы), тиреотропин (ТТГ – контролирует щитовидную железу), лютеинизирующий и фолликулостимулирующий гормоны (ЛГ и ФСГ – регулируют созревание яйцеклеток и сперматозоидов) и ряд других. Нарушения функций клеток аденогипофиза приводят к тяжелым формам гормональных дисфункций – карликовости, умственной отсталости, бесплодию у мужчин и женщин.

Панкреатические островки (островки Лангерганса-Соболева) представляют собой небольшие группы клеток, расположенные около сосудов между дольками экзокринной части. Клетки панкреатических островков синтезируют и выделяют гормоны, регулирующие уровень сахара в крови. Как и в аденогипофизе, каждая клетка островка секретирует только один вид гормона, который упаковывается в гранулы. В панкреатическом островке различают четыре типа клеток: А, В, С и D. А - клетки синтезируют глюкагон, который способствует образованию глюкозы из гликогена. В - клетки синтезируют инсулин, стимулирующий превращение глюкозы в гликоген. D - клетки выделяют соматостатин, снижающий уровень гормона роста в крови. С - клетки гранул не имеют, они являются предшественниками В-клеток. Для медицины особенно важны генетические дефекты В-клеток панкреатических островков, приводящие к недостатку инсулина и развитию тяжелого заболевания – сахарного диабета.

Щитовидная железа находится в переднем средостении и состоит из двух или трех неравных долек. Структурно-функциональной единицей этого органа являются фолликулы, представляющие собой округлые полости различной величины. Между фолликулами находится соединительная ткань. Стенка фолликула щитовидной железы образована однослойным эпителием, расположенным на базальной пластинке. Полость фолликула заполнена коллоидом – полупрозрачным веществом, состоящим из белка тироглобулина (660 кД). Тироглобулин синтезируется и выделяется клетками фолликулярного эпителия – тироцитами. Одновременно тироциты поглощают тироглобулин и, расщепляя его, секретируют в кровь два гормона – тироксин (Т4) и трийодтиронин (Т3). Таким образом, сначала тироциты создают запас высокомолекулярного тироглобулина, а затем используют его для образования низкомолекулярных гормонов.

Активной формой гормона щитовидной железы является Т3. Поступая в ядра всех клеток организма, он регулирует интенсивность транскрипции генов и тем самым уровень обмена веществ в организме. Т4 служит в качестве неактивной формы для быстрой конвертации в Т3. Оба гормона содержат атомы йода, который является лимитирующим фактором для образования активной формы. Поэтому при недостатке йода в пище уровень обмена веществ снижается, а щитовидная железа компенсаторно увеличивается. Нарушения синтеза и выделения гормонов этой железой приводит к ряду тяжелых нарушений обмена веществ, замедленному развитию и умственной отсталости.

В состав щитовидной железы входят также группы клеток паращитовидной (околощитовидной) железы. Они секретируют в кровь зависимый от витамина D паратгормон, который способствует повышению концентрации кальция в крови. Его антагонистом является кальцитонин, который выделяется С-клетками фолликулярного эпителия щитовидной железы.

## **1.10. Ткани внутренней среды**

Ткани внутренней среды составляют большую и разнообразную группу. Они отличаются следующими характерными признаками:

- располагаются внутри организма, не контактируя с внешней средой и полостями внутренних органов;
- содержат много межклеточного вещества;
- клетки не обладают полярностью;
- развиваются из мезодермы и ее производных;
- способны к физиологической и репаративной регенерации, обладая собственными стволовыми клетками;
- создают и поддерживают внутреннюю среду организма;
- снабжаются кислородом и питательными веществами с помощью сосудов и капилляров.

Общая классификация этих тканей представлена в таблице 6.

Таблица 6 – Классификация тканей внутренней среды.

Ткани внутренней среды →	кровь и лимфа соединительные ткани:
Соединительные ткани →	собственно соединительная ткань хрящевая ткань костная ткань
Собственно соединительная ткань →	волокнистая со специальными свойствами
Волокнистая →	рыхлая плотная
Плотная →	неоформленная оформленная

Функции тканей внутренней среды могут быть различными. Например, кровь, лимфа и рыхлая волокнистая соединительная ткань обеспечивают питание организма и защиту его от чужеродных продуктов. Большинство соединительных тканей выполняет механические функции, образуя такие опорные органы, как кости, хрящи, сухожилия и связки. Рыхлая волокнистая соединительная ткань выполняет также заместительные функции, обеспечивая репарацию повреждений на тканевом уровне.

Обычно кровь и лимфа рассматриваются отдельно от других тканей. Однако если рассматривать плазму крови как жидкое межклеточное вещество, ее можно считать типичной тканью внутренней среды. Другая большая группа тканей внутренней среды – это соединительные ткани. Они различаются клеточным составом, химическими и физическими свойствами межклеточного вещества, а также количеством и степенью упорядоченности волокнистого компонента.

В наборе препаратов по общей гистологии для вузов есть препарат «Мезенхима зародыша цыпленка». Он представляет собой поперечный срез через развивающийся зародыш курицы. Препарат надо сориентировать в микроскопе таким образом, чтобы более крупная нервная трубка находилась сверху, а хорда располагалась ниже. Наружный одинарный слой клеток представляет собой эктодерму. Внутренний одинарный слой клеток (ниже хорды) является энтодермой. По обе стороны от нервной трубки и хорды будут находиться скопления более темных клеток мезодермы. Эти скопления состоят из более широкой верхней части, составляющей сегментированную мезодерму, или сомиты. Клетки внутренней части сомита (обращенные к нервной трубке) относятся к склеротому. Клетки наружной части сомита (обращенные к эктодерме) относятся к дерматому. Между дерматомом и склеротомом находятся клетки миотома. Нижняя, более узкая часть мезодермы составляет несегментированную мезодерму, или спланхнотом. Пространство между осевыми структурами (хордой и нервной трубкой) заполнено рыхло расположенными отростчатыми клетками диффузной мезодермы, или мезенхимы (эмбриональной соединительной ткани). На некоторых препаратах более позднего срока видно, что несегментированная мезодерма (спланхнотом) расщепляется на два листка – внутренний (висцеральный) и наружный (париетальный). Между ними образуется

вторичная полость тела, или целом. Иногда в нижней части зародыша видны симметрично расположенные первичные сосуды (чуть выше энтодермы). На границе сомитов и спланхнотома находятся клетки нефротомы.

Клетки эктодермы дадут впоследствии многослойный эпителий покровов, железы и органы чувств. Энтодерма сформирует однослойный эпителий желудочно-кишечного тракта и пищеварительные железы. Нервная трубка даст начало спинному и головному мозгу. Хорда будет формировать позвоночник. В сегментированной мезодерме (сомитах) склеротом является источником развития скелета, миотом – скелетной мускулатуры, а дерматом – сетчатого слоя кожи. Несегментированная мезодерма – спланхнотом – даст начало мезотелию, гладкой мускулатуре, миокарду и оболочкам внутренних органов. Из нефротомы будет развиваться мочеполовая система. Диффузная мезодерма – мезенхима – сформирует кровь, сосуды и соединительные ткани.

### **1.10.1. Рыхлая волокнистая соединительная ткань**

Рыхлая волокнистая соединительная ткань образуется из мезенхимы. Она является наименее специализированной из всех соединительных тканей. Функции ее разнообразны. В частности, она формирует строму многих внутренних органов, сопровождает сосуды, замещает другие ткани при повреждении, является местом развития воспалительной реакции. Состоит рыхлая волокнистая соединительная ткань из клеток и межклеточного вещества, причем клетки составляют около 1/3 объема ткани. Клетки этой ткани бывают собственные и пришлые.

1. Фибробласты. Эти клетки имеют удлиненное овальное ядро с ядрышком и широкие отростки. Под плазмолеммой расположен более светлый слой цитоплазмы – эктоплазма (кортекс). Внутренняя, более темная эндоплазма богата органоидами. Фибробласты способны двигаться, формируя широкие выпячивания – ламеллоподии. Движение клеток обеспечивается актино-миозиновыми комплексами. Фибробласты могут делиться митозом. Функции этих клеток заключаются в синтезе, выделении и трансформации компонентов межклеточного вещества. Они вырабатывают коллаген и другие белки, а также гликозаминогликаны (мукополисахариды).

2. Гистиоциты (макрофаги) по размерам несколько меньше фибробластов, округлой формы. Они имеют бобовидное ядро с нежным рисунком хроматина. В цитоплазме имеются шероховатая плазматическая сеть, пластинчатый комплекс, митохондрии и многочисленные лизосомы. Активированные гистиоциты увеличиваются в размерах и начинают амебоидное движение, образуя псевдоподии. Они могут захватывать и переваривать бактерии, клеточный детрит и инородные частицы. Гистиоциты способны к митотическому делению.

3. Тучные клетки (лаброциты, мастоциты или тканевые базофилы). Имеют округлую форму и небольшое сегментированное на две дольки ядро. Цитоплазма заполнена большим количеством гранул темно-фиолетового цвета диаметром 300–700 нм, которые содержат ряд биологически активных веществ – гистамин, серотонин, гепарин и др. Функции этих клеток состоят в запуске воспалительного процесса путем секреции гистамина, регуляции химического состава межклеточного вещества и развитии аллергических реакций.

4. Плазмоциты (плазматические клетки) синтезируют и выделяют защитные молекулы – антитела. Они имеют овальную форму с одним более узким концом, в котором расположено небольшое ядро округлой формы. Для плазмоцитов характерно крестообразное распределение гетерохроматина в ядре. Цитоплазма обладает базофилией, что свидетельствует об интенсивном синтезе белка. Рядом с ядром, но ближе к центру клетки локализуется слабо базофильный «дворик», в котором располагается пластинчатый комплекс. Основная часть цитоплазмы занята шероховатой плазматической сетью, которая формирует систему концентрических сфер. Плазмоцит образуется из лимфоцитов.

5. Адвентициальные клетки. Они имеют удлинённую форму, веретеновидное ядро и локализуются обычно у капилляров. Эти клетки являются предшественниками фибробластов и липоцитов.

6. Эндотелиальные клетки. Это уплощённые одноядерные клетки, которые выстилают кровеносные и лимфатические капилляры и сосуды, а также образуют эндокард (внутреннюю поверхность сердца). Они могут иметь небольшое число микроворсинок. Эндотелиоциты обеспечивают транспорт веществ из крови в окружающую ткань и обратно. Эндотелий кровеносных капилляров располагается на базальной пластинке, но в лимфатических капиллярах и синусоидах кроветворных органов она отсутствует, а в капиллярах печени имеет поры.

7. Перициты (перикапиллярные клетки) имеют отростчатую форму и фиксированы на эндотелии капилляров с тканевой стороны или в расщеплении базальной пластинки. Перициты способны к набуханию, на них заканчиваются нервные терминалы эффекторных отростков нервных клеток.

Кроме перечисленных, в рыхлой волокнистой соединительной ткани могут встречаться также лимфоциты, нейтрофильные гранулоциты, меланоциты и другие типы клеток. Фибробласты, липоциты и адвентициальные клетки относятся к популяции собственных клеток рыхлой волокнистой соединительной ткани, которая возникла из особой стволовой клетки. Гистиоциты, лаброциты, плазмоциты и некоторые другие клетки пришли сюда из крови и являются потомством стволовой кроветворной клетки.

Межклеточное (промежуточное или межклеточное) вещество рыхлой волокнистой соединительной ткани представлено волокнистым и аморфным компонентами. Волокна в рыхлой волокнистой соединительной ткани бывают двух типов – коллагеновые и эластические. Коллагеновые волокна обычно собраны в извитые пучки или ленты толщиной 30–100 мкм и более, которые пересекают ткань в различных направлениях. Эластические волокна имеют диаметр 1–3 мкм, они прямые или плавно изогнутые, не формируют пучков. Коллагеновые и эластические волокна придают ткани прочность и упругость.

Аморфное вещество рыхлой волокнистой соединительной ткани имеет сложный химический состав и обладает высокой вязкостью. Оно состоит из гликозаминогликанов, протеогликанов, белков плазмы крови, гормонов, низкомолекулярных органических веществ (аминокислот, пептидов, сахаров) и воды. Аморфное вещество активно участвует в обмене веществ между кровью и клетками, выполняет поддерживающую, защитную, фильтрационную и другие функции.

### 1.10.2. Плотные соединительные ткани

Плотные волокнистые соединительные ткани отличаются большим количеством волокнистого компонента в межклеточном веществе, который придает им высокую прочность. Аморфного компонента в этих тканях немного, клетки представлены фибробластами, а также фиброцитами – малоактивными, не способными к делению уплощенными клетками, которые рассматриваются как продукт терминальной дифференцировки фибробластов. Плотные соединительные ткани выполняют в основном механические функции. Она обеспечивается прочностью коллагеновых волокон и упругостью эластических волокон.

Коллагеновые волокна (коллаген – клей) имеют диаметр 5–15 мкм. При длительном кипячении в воде они образуют желатину. Коллагеновые волокна состоят из фибриллярного белка тропоколлагена с молекулярной массой 360 кД. Длина молекулы тропоколлагена составляет 300 нм, диаметр – 1,4 нм. Она состоит из трех параллельно идущих полипептидов, свернутых в  $\alpha$ -спираль. Такая пространственная структура белка обеспечивается высокой регулярностью его первичной структуры. Аминокислотная последовательность тропоколлагена состоит из повторяющихся структур X-Y-Gly, где X – любая аминокислота кроме триптофана и цистеина, а Y – пролин или оксипролин. Глицин, пролин и оксипролин составляют в сумме около 56 % от общего содержания аминокислот.

Коллаген синтезируется фибробластами. Сначала на полисомах в плазматической сети синтезируется предшественник (протоколлаген), который не содержит оксипролина. Гидроксилирование пролина с образованием оксипролина происходит после трансляции полипептида в полостях и канальцах плазматической сети. Далее полипептид перемещается в пластинчатый комплекс, где формируется растворимая форма коллагена – проколлаген, который и выводится из клетки. В межклеточном веществе на поверхности фибробласта проколлаген переходит в тропоколлаген. При участии гликозаминогликанов тропоколлаген образует микрофибриллы диаметром 50–80 нм, представляющие собой комплексы молекул, соединенные «стык в стык» и «бок о бок». Микрофибриллы коллагена затем соединяются по такому же принципу в коллагеновые волокна диаметром 5–15 мкм, а те в свою очередь могут объединяться в пучки и ленты толщиной до 100 мкм и более. Коллагеновые волокна обладают высокой прочностью, их модуль упругости составляет 6 кг/мм<sup>2</sup>.

Эластические (эластиновые) волокна в отличие от коллагеновых волокон устойчивы к воздействию кислот и щелочей. Они содержат белок эластин и полисахариды, отличаются низким содержанием оксипролина. Эластические волокна менее прочны, чем коллагеновые (их модуль упругости составляет 4-6 кг/см<sup>2</sup>), однако они в большей степени способны к упругим деформациям. Основу эластического волокна составляет аморфный стержень, вокруг которого навиты фибриллы диаметром 8–20 нм. Толщина эластических волокон достигает 1–10 мкм, но они не формируют пучков.

Существуют две разновидности плотной соединительной ткани: неоформленная и оформленная. Неоформленная ткань образует сетчатый слой

кожи и оболочки суставов и некоторых других органов. Коллагеновые и эластические волокна в ней расположены неупорядочено, образуя густую сеть. Оформленная ткань характеризуется регулярным расположением коллагеновых или эластических волокон. Эта разновидность плотной соединительной ткани образует сухожилия, связки, фасции, апоневрозы и собственный слой роговицы глаза.

Сухожилия прикрепляют мышцы к костям. Коллагеновые волокна сухожилия формируют пучки первого порядка, в которых отдельные волокна расположены на небольшом расстоянии параллельно друг к другу. Между волокнами находятся фиброциты (сухожильные клетки), имеющие уплощенно-звездчатую форму. Группы пучков первого порядка объединены в пучки второго порядка, покрытые оболочкой из рыхлой соединительной ткани – эндотенонием. В эндотенонии расположены сосуды и нервные окончания. Наружная оболочка сухожилия из рыхлой соединительной ткани называется перитенонием. Сухожилия могут иметь пучки до пятого порядка включительно.

Связки отличаются от сухожилий преобладанием эластических волокон. Поэтому они менее прочны, чем сухожилия, однако обладают высокой гибкостью. Эластические волокна в связке расположены параллельно друг другу, но пучков не образуют. Каждое волокно окружено тонкой прослойкой рыхлой соединительной ткани, в которой присутствуют фиброциты и тонкие коллагеновые волокна. Снаружи связка также покрыта рыхлой соединительной тканью.

### 1.10.3. Специальные соединительные ткани

В группу специальных соединительных тканей включены ткани, для которых характерно преобладание клеток над межклеточным веществом. Эта группа представлена жировой, пигментной, ретикулярной и слизистой тканями.

Жировая ткань образована скоплениями жировых клеток (липоцитов, или адипоцитов). Одиночные липоциты часто обнаруживаются в рыхлой волокнистой соединительной ткани, где они обычно располагаются по ходу кровеносных сосудов. Особым типом ткани считают их скопления, которые образуются в сетчатом слое дермы, между лопатками, в сальнике и некоторых других местах. Различают две разновидности жировой ткани – белую и бурую (таблица 7).

Таблица 7 – Разновидности жировой ткани.

Белая жировая ткань	Бурая жировая ткань
Крупные округлые клетки с большой светлой каплей нейтрального жира. Размеры достигают 50 мкм. Цитоплазма и пикнотическое ядро прижаты к плазмолемме, поэтому внешне они напоминают перстень.	Липоциты полигональной формы, небольших размеров с центрально расположенным ядром. Мелкие липидные капли распределены по всей цитоплазме, имеют бурый цвет из-за присутствия цитохромов.

Как белая, так и бурая жировая ткань служит источником энергии и метаболической воды. Бурая жировая ткань распространена у животных,

впадающих в спячку. У человека она имеется только около лопаток и по бокам туловища у младенцев.

Пигментная ткань состоит в основном из пигментных клеток (хроматофоров, или меланоцитов). Как и липоциты, одиночные хроматофоры часто встречаются в рыхлой волокнистой соединительной ткани. О пигментной ткани говорят в том случае, когда хроматофоры становятся преобладающей клеточным типом.

Хроматофор представляет клетку звездчатой формы, с длинными отростками и расположенным центрально небольшим ядром. Цитоплазма его заполнена темными зернами пигмента меланина. Окраска многих покровов человека и животных обусловлена числом и размерами зерен меланина. Этот пигмент также выполняет защитные функции, поглощая ультрафиолетовые лучи. Наибольшего развития пигментная ткань достигает у рыб, амфибий и рептилий. Нейроэндокринные сигналы вызывают изменение длины отростков меланоцита, что обеспечивает изменение окраски животного.

Ретикулярная ткань формирует строму кроветворных органов – красного костного мозга, селезенки и лимфатических узлов. Она состоит из ретикулярных клеток и межклеточного вещества, в котором преобладающим компонентом являются ретикулярные (ретикулиновые) волокна.

Ретикулярные клетки имеют отростчатую форму, отличаются светлой цитоплазмой и округлым ядром. Соединяясь своими отростками, они формируют трехмерную сеть, свободное пространство которой заселяется стволовыми клетками, макрофагами и лимфоцитами. Эта сеть укреплена ретикулярными волокнами, армирующими поверхность ретикулярных клеток и их отростков. Ретикулярные волокна состоят из особой разновидности коллагена, однако отличаются устойчивостью к кислотам и щелочам, а также аргирофильностью – способностью связывать соли серебра.

Ретикулярная ткань не только формирует строму кроветворных органов, но и создает микроокружение для стволовых клеток и их коммитированного потомства. В селезенке и лимфатических узлах ретикулярные клетки принимают участие в защитных реакциях, обеспечивая наряду с макрофагами предварительную обработку и опознание чужеродных веществ – антигенов.

#### **1.10.4. Хрящевая ткань**

Хрящевая ткань является одной из разновидностей соединительных тканей. Она выполняет механические функции у позвоночных животных, образуя скелет или отдельные его компоненты.

Хрящевая ткань состоит из клеток и межклеточного вещества. Клетки хрящевой ткани называются хондробластами и хондроцитами. Хондробласты имеют овальную форму, они располагаются одиночно по периферии ткани. Хондроциты – клетки более крупные, округлой формы, содержат 1–2 ядра, расположены группами по 2–10 клеток (изогенные группы). В цитоплазме хондроцитов хорошо развиты плазматическая сеть и пластинчатый комплекс, имеются митохондрии, включения гликогена и жира. Хондробласты и хондроциты накапливают воду и поэтому находятся в состоянии тургора наподобие растительных клеток. Их функции заключаются в синтезе коллагена и гликозаминогликанов и формировании межклеточного вещества хрящевой ткани.

Клетки хрящевой ткани получают кислород и питательные вещества диффузно. Хондробласты и молодые хондроциты делятся митозом и amitozом.

В зависимости от структуры межклеточного вещества различают три разновидности хрящевой ткани – гиалиновую, эластическую и волокнистую.

Гиалиновая (стекловидная) хрящевая ткань окрашена в бледно-голубой цвет. Она образует суставные поверхности костей, вентральные части ребер, а также входит в состав трахеи и бронхов. Волокнистый компонент ее межклеточного вещества представлен одиночными волокнами коллагена (хондрин). Их диаметр составляет 6–60 нм и поэтому они не видны в световой микроскоп. Общее количество хондриновых волокон равно 18 % сухого веса ткани. Аморфное вещество содержит кислые и нейтральные гликозаминогликаны и кератосульфаты, количество их составляет около 20 % сухого веса ткани. Содержание воды в хрящевой ткани может достигать 80 %.

Хондроциты в гиалиновой хрящевой ткани окружены тонким оксифильным ободком, который называется капсулой. Она состоит из вновь сформированного межклеточного вещества, которое отличается низкой плотностью и сниженной концентрацией кислых гликозаминогликанов. Изогенная группа окружена широкой каймой базофильного вещества, образующего хондриновый шар. Хондриновые шары в целом обозначаются термином «территории», тогда как менее базофильное межклеточное вещество между хондриновыми шарами называют «интертерриториальным пространством». В полностью созревшей хрящевой ткани вокруг территорий появляется узкая оксифильная полоска.

Эластическая хрящевая ткань встречается в надгортаннике, ушной раковине и носовой перегородке. Ее межклеточное вещество содержит большое количество переплетающихся эластических волокон, которые образуют вокруг изогенных групп и одиночных хондроцитов густую сеть. Эластические волокна придают упругость хрящевой ткани, которая одновременно отличается прочностью из-за присутствия коллагеновых волокон и высокого содержания воды.

Волокнистая (коллагено-волокнистая) хрящевая ткань представляет собой переход сухожилий или связок в гиалиновый хрящ. Поэтому с одной стороны препарата мы видим параллельно расположенные коллагеновые (или эластические) волокна, а с другой стороны – округлые хондроциты в однородном межклеточном веществе.

Хрящевая ткань покрыта надхрящницей (перихондром), которая состоит из рыхлой волокнистой соединительной ткани и содержит кровеносные сосуды, капилляры и нервные окончания. Комплекс надхрящницы с хрящевой тканью рассматривается как орган.

Хрящевая ткань развивается из мезенхимы, причем ее гистогенез можно разделить на следующие этапы:

1. Образование хондрогенного островка. Клетки мезенхимы утрачивают отростки, округляются и насыщаются водой. Они начинают синтезировать компоненты межклеточного вещества хряща.

2. Дифференцировка на хондробласты и хондроциты. При накоплении межклеточного вещества часть клеток оказывается замурованной в его толще

(хондроциты), а другая часть остается на поверхности (хондробласты). Обе популяции клеток продуцируют компоненты межклеточного вещества.

3. Формирование изогенных групп. Хондроциты могут делиться в толще межклеточного вещества ограниченное число раз.

4. Возникновение хондриновых шаров. Закончив деление, хондроциты выделяют измененный набор продуктов белковой и полисахаридной природы.

5. Окончательное созревание хряща. Повышается контраст между хондриновыми шарами (территориями) и интертерриториальным пространством. По наружному краю хондриновых шаров возникает тонкая оксифильная кайма.

Таким образом, рост и развитие хряща обеспечивается как расположенными по периферии органа хондробластами (аппозиционный рост), так и замурованными в толщу межклеточного вещества хондроцитами (интерстициальный, или интусусепционный рост).

Восстановление хрящевой ткани при повреждении происходит с участием надхрящницы за счет притока предшественников хрящевых клеток из крови. При нарушении питания хряща клетки его погибают, а межклеточное вещество постепенно разрушается. Дистрофии хряща часто предшествует, особенно в старой ткани, его обызвествление – накоплению карбоната кальция. Оно проявляется в появлении базофилии ткани диффузного характера. Хрящ при этом становится ломким.

#### **1.10.5. Костная ткань**

Костная ткань выполняет механические функции, образуя скелет у позвоночных животных. Минеральные вещества составляют 70 % сухого веса костной ткани, а органические – 30 %. Она также содержит 50 % воды в связанной кристаллами форме. Как и другие соединительные ткани, костная ткань представлена клетками и межклеточным веществом.

Различают три типа клеток костной ткани – остеобласты, остеоциты и остеокласты. Остеобласты содержатся главным образом в формирующейся кости, где они интенсивно секретируют компоненты межклеточного вещества. Остеобласты имеют цилиндрическую форму и тонкие короткие отростки. В цитоплазме хорошо развиты гранулярная плазматическая сеть и пластинчатый комплекс, присутствуют митохондрии и жировые включения. Большое число связанных с мембранами рибосом, которые обеспечивают синтез белков межклеточного вещества, придает цитоплазме остеобластов базофильный характер. Цитохимическим маркером этих клеток является щелочная фосфатаза.

Остеоциты представляют собой высокодифференцированное потомство остеобластов. Они находятся в особых полостях в твердом межклеточном веществе, отграниченных костной капсулой. Остеоциты имеют звездчатую форму, их ветвящиеся отростки проходят в костных канальцах, связывая клетки между собой. Отростки остеоцитов контактируют также с кровеносными сосудами, из которых клетки получают питательные вещества.

Остеоциты обладают слабо базофильной цитоплазмой, гранулярная плазматическая сеть и пластинчатый комплекс развиты у них меньше, чем у остеобластов. Функции остеоцитов заключаются в регуляции минерального обмена костной ткани.

Остеокласты являются специализированными макрофагами костной ткани. Они представляют собой клетки диаметром 50–80 мкм, которые содержат 3–10 ядер. У края остеоклота, соприкасающегося с межклеточным веществом кости, имеются пальцевидные выросты, формирующие щеточную каемку. В цитоплазме этих клеток, особенно вблизи щеточной каемки, располагаются многочисленные лизосомы, которые выделяют ферменты, растворяющие межклеточное вещество кости. В целом остеокласты обладают оксифилией, гранулярная плазматическая сеть и пластинчатый комплекс развиты у них слабо. Цитохимическим маркером остеокластов служит содержащаяся в лизосомах кислая фосфатаза.

Межклеточное вещество костной ткани твердое, обладает большой прочностью, которая обеспечивается большим количеством коллагеновых волокон, их пространственной упорядоченностью, а также высоким содержанием минеральных солей.

Коллагеновые (оссеиновые) протофибриллы костной ткани имеют диаметр от 10 до 150 нм. Минеральные соли представлены кристаллами гидроксиапатита или оксиапатита длиной до 150 нм и шириной 2–8 нм, которые встроены в пучки протофибрилл. В зависимости от пространственной укладки коллагеновых фибрилл костную ткань подразделяют на грубоволокнистую и пластинчатую.

Грубоволокнистая костная ткань характеризуется тем, что коллагеновые волокна образуют в ней трабекулы, представляющие собой мощные пучки волокон в виде перекладин, или балок. Замурованные в минерализованное межклеточное вещество остеоклота равномерно располагаются в толще трабекул. Этот тип ткани встречается у взрослого человека только в местах прикрепления сухожилий к костям и в черепных швах. У рыб и амфибий грубоволокнистая кость образует весь скелет.

Пластинчатая костная ткань отличается высокой пространственной упорядоченностью коллагеновых волокон, которые, располагаясь параллельно в один слой, формируют костные пластинки. В соседних костных пластинках волокна направлены под углом друг к другу, что придает дополнительную прочность межклеточному веществу. Остеоклота располагаются между костными пластинками, причем их отростки через особые каналы проходят через костные пластинки и вступают в контакт с отростками соседних клеток.

Пластинчатая костная ткань может формировать губчатое и компактное вещество. Губчатое вещество образовано трабекулами из костных пластинок, тогда как компактное вещество состоит из остеонов - комплексов цилиндрических костных пластинок, которые располагаются концентрически вокруг кровеносного сосуда. Остеонная организация костных пластинок обеспечивает высокую прочность костной ткани, поэтому из компактного вещества состоят испытывающие высокие нагрузки диафизы трубчатых костей.

Снаружи кость покрыта надкостницей (периостом), которая состоит из внешнего грубоволокнистого и внутреннего тонковолокнистого слоев. Во внешнем слое надкостницы имеются коллагеновые и эластические волокна, идущие параллельно поверхности кости, кровеносные сосуды и нервные окончания. Внутренний слой содержит остеобласты и отличается

перпендикулярным расположением волокон, которые прочно прикрепляют надкостницу к кости (шарпеевы волокна).

На поперечном срезе диафиза трубчатой кости видно, что под надкостницей находится несколько внешних генеральных костных пластинок, охватывающих всю кость в целом. Пространство между образующими компактное вещество остеонами заполнено вставочными костными пластинками, которые являются остатками остеонов предыдущих поколений. В центре остеона находится гаверсов канал с проходящим по нему кровеносным сосудом. Остеоциты расположены между соседними костными пластинками на равном расстоянии друг от друга по окружности остеона. Сосуды остеонов соединены в единую систему, которая связана с кровеносной системой фолликулярными каналами. В центральной части диафиза имеет внутренние генеральные костные пластинки, покрытые соединительнотканной оболочкой – эндостом, под которым находятся полости для костного мозга.

Кроме механических функций, костная ткань принимает участие в минеральном обмене, являясь местом запасания фосфора, кальция, магния, фтора и других элементов. Наибольшее значение среди них имеет кальций, который играет важную роль в регуляции клеточных функций. Поэтому концентрация кальция в крови человека поддерживается на постоянном уровне при помощи двух гормонов – кальцитонина и паратгормона. Кальцитонин, который вырабатывается С-клетками фолликулярного эпителия щитовидной железы, понижает содержание кальция в крови и способствует его отложению в костной ткани. Паратгормон, продуцируемый клетками паращитовидной железы, наоборот, повышает содержание кальция в крови, выводя его из костной ткани.

Во время эмбриогенеза костная ткань возникает или непосредственно из мезенхимы – прямой остеогенез, или на месте ранее образованной хрящевой ткани – непрямой остеогенез.

Прямой остеогенез характерен для костей черепа. Он начинается с возникновения группы остеогенных клеток среди первоначально однородной популяции клеток мезенхимы – остеогенного островка. Клетки остеогенного островка делятся и секретуют вещества, характерные для костной ткани. По мере накопления оксифильного межклеточного вещества (оссеина) они распадаются на две популяции в зависимости от их места по отношению к формирующейся костной трабекуле. Замурованные в толщу межклеточного вещества клетки превращаются в остеоциты, тогда как остеобласты продолжают активно откладывать компоненты межклеточного вещества на поверхность трабекулы. Постепенно по мере утолщения трабекул происходит их минерализация. В прямом гистогенезе участвуют также остеокласты, которые резорбируют участки трабекул, обеспечивая совместно с остеобластами перестройку грубоволокнистой костной ткани в пластинчатую.

Непрямой остеогенез отличается первоначальным формированием хрящевой модели и характерен для костей конечностей. Хрящевые модели (хрящевые болванки) трубчатой кости повторяют в общих очертаниях форму будущего органа, но имеют размеры всего несколько миллиметров и состоят из гиалинового хряща. Переход хрящевой ткани в костную ткань при непрямом остеогенезе

начинается в районе диафиза. Надхрящница превращается в надкостницу, и ее клетки откладывают компоненты межклеточного вещества по типу грубоволокнистой костной ткани. Постепенно вокруг диафиза образуется костная манжетка, которая препятствует дыханию и питанию хрящевой ткани. В результате расположенный под костной манжеткой гиалиновый хрящ начинает дегенерировать, образуя замкнутые полости. Из надкостницы в образованные в хряще полости прорастают кровеносные сосуды и из них выселяются остеобласты, которые начинают откладывать межклеточное вещество внутри диафиза.

Формирование костной ткани на поверхности диафиза называется перихондральным окостенением, а внутри диафиза – энхондральным окостенением. В обоих случаях с участием остеобластов, остецитов и остеокластов образуются трабекулы грубоволокнистой костной ткани, морфология которых весьма напоминает прямой остеогенез.

В дальнейшем процесс окостенения охватывает весь диафиз за исключением участков на границе с эпифизами, которые обозначаются как метэпифизарные пластинки. Хондроциты в этом месте образуют характерные вертикальные ряды, или клеточные колонки, в которых клетки интенсивно делятся, как бы «убегая» от наступающей костной ткани. Хрящевые метэпифизарные пластинки обеспечивают рост трубчатой кости в длину и полностью окостеневают только приблизительно к 20 годам, являясь до этого срока наименее прочным участком органа. Окостенение эпифизов происходит позже, чем диафиза, но в общих чертах повторяется тот же процесс.

Первоначально в ходе перихондрального и энхондрального окостенения в трубчатых костях образуется грубоволокнистая костная ткань. Позднее как в диафизе, так и в эпифизах она замещается пластинчатой костной тканью, формирующей губчатое вещество. Губчатое вещество сохраняется далее только в эпифизах. В диафизе оно замещается компактным веществом, приобретая остеонное строение. В процессе дальнейшего роста кости происходит смена нескольких поколений остеонов.

### **1.10.6. Кровь**

Кровь и близкая к ней по свойствам лимфа представляют собой ткани внутренней среды, отличающиеся жидким межклеточным веществом. Клетки крови (форменные элементы) составляют до 45 % объема всей ткани, тогда как межклеточное вещество, или плазма – 55 %. Количество крови у взрослого человека достигает 5–6 л. Кровь выполняет ряд важных для всего организма функций: дыхательную, трофическую, экскреторную, регуляторную, гомеостатическую и защитную.

Плазма крови на 90 % состоит из воды. На органические вещества, преимущественно белки, приходится 9 %, а 1 % составляют неорганические вещества. К белкам плазмы относятся:

- альбумины, выполняющие транспортные функции;
- глобулины, которые переносят металлы и липиды, а также выполняют защитные функции (иммуноглобулины);
- фибриноген, обеспечивающий свертывание крови;

- белки системы комплемента, которые защищают организм от бактерий.

Большинство белков плазмы крови синтезируется клетками печени, за исключением иммуноглобулинов, секретируемых плазмочитами в селезенке, лимфатических узлах и других органах иммунной системы. Среди неорганических веществ наибольшее значение имеют ионы хлора и натрия. Неорганические и органические вещества плазмы образуют буферные системы, которые поддерживают постоянную кислотность крови (рН 7,4).

В лабораторной практике для удобства хранения вместо плазмы обычно используют сыворотку крови, которая лишена фибриногена и других белков, участвующих в формировании тромба. Остальные компоненты присутствуют в сыворотке в тех же концентрациях, что и в плазме. Концентрация многих веществ (гемоглобина, глюкозы, мочевины, кальция, билирубина и др.) поддерживается в крови на одном уровне, поэтому их определение используется для оценки состояния физиологических систем организма.

### ***Форменные элементы крови***

Классификация форменных элементов (клеток) крови была разработана в начале XX в., когда стали применяться красители сложного состава, позволяющие хорошо прокрашивать как ядро, так и цитоплазму. В целом все методы окраски дают сходные результаты, отличаясь только более тонкой проработкой ядра (краситель Романовского-Гимзы) или цитоплазматической зернистости (краситель Май-Грюнвальда). Поэтому часто используется комбинированный метод Паппенгейма, сочетающий оба красителя.

Все форменные элементы крови подразделяются на красные кровяные клетки, или эритроциты, белые кровяные клетки, или лейкоциты и кровяные пластинки, или тромбоциты. Среди лейкоцитов выделяют два типа клеток: зернистые, или гранулоциты, и незернистые, или агранулоциты. К гранулоцитам относятся нейтрофилы, эозинофилы и базофилы, которые различаются между собой характером цитоплазматической зернистости. К агранулоцитам принадлежат моноциты и лимфоциты.

Эритроциты имеют форму двояковогнутого диска диаметром 8 и толщиной 2 мкм. Клетка безъядерная, окрашивается в бледно-желтый или розовый цвет. Цитоплазма эритроцита заполнена белком гемоглобином, который разносит кислород по тканям. Кроме переноса кислорода, эритроцит транспортирует также карбонат-ион и некоторые другие молекулы. Количество эритроцитов в 1 микролитре составляет 4,5–5,5 млн. Уменьшение количества эритроцитов приводит к анемии (малокровию), увеличение – к эритремии. Эти клетки созревают в красном костном мозгу и уничтожаются в селезенке. Продолжительность жизни эритроцита составляет около трех месяцев.

Нейтрофилы составляют больше половины от общего числа лейкоцитов (около 3–4 тысяч на 1 мкл). Это округлая клетка диаметром 9 мкм с сегментированным ядром и слабо оксифильной цитоплазмой. Число сегментов ядра зависит от возраста клетки и может достигать шести. В цитоплазме нейтрофила различают три вида зерен. Крупные базофильные зерна называются азурофильными, потому что в состав гематологических красителей входит азур, который окрашивает эти гранулы. На самом деле они представляют собой

лизосомы. Наиболее многочисленной является в нейтрофиле мелкая зернистость на пределе разрешения светового микроскопа (250 нм), цвет которой определить невозможно, и поэтому она называется нейтрофильной, или специфической. Специфические гранулы нейтрофилов содержат белки дефенсины, с помощью которых происходит обволакивание (опсонизация) бактериальных клеток перед их фагоцитозом. Третий вид зерен в цитоплазме нейтрофила – это пероксисомы.

Функции нейтрофилов связаны с защитой организма от бактерий. Они способны атаковать бактериальные клетки и нарушать целостность ее оболочки, а также фагоцитировать бактериальные клетки и разрушать их с помощью ферментов азурофильных гранул.

Нейтрофилы образуются в красном костном мозгу и распространяются по всему кровеносному руслу, оседая на эндотелии сосудов. При появлении очага воспаления нейтрофилы проходят через стенки капилляров и атакуют бактериальные клетки, погибая при этом. В сосудистом русле неактивные нейтрофилы находятся около недели, а затем самоуничтожаются путем апоптоза и фагоцитируются альвеолярными макрофагами.

Эозинофилы внешне очень похожи на нейтрофилы, но отличаются от них характером специфической зернистости. Диаметр специфических зерен эозинофилов составляет около 800 нм. Они обладают слоистой микроструктурой и окрашиваются в ярко-оранжевый цвет. В зернах эозинофилов содержится ряд защитных белков, в частности белки, повреждающие кутикулу паразитических червей. Эозинофилы участвуют также в аллергических реакциях. Количество эозинофилов в периферической крови составляет 100–200 клеток на 1 мкл. Превышение этого уровня наблюдается, например, при аллергических ринитах. Размеры эозинофила достигают 10–12 мкм в диаметре, ядро содержит обычно два сегмента, но их может быть и больше. В цитоплазме кроме специфических присутствуют также азурофильные гранулы и пероксисомы.

Базофилы отличаются от других зернистых лейкоцитов тем, что их цитоплазма заполнена темно-фиолетовыми гранулами. Диаметр клетки составляет 8–10 мкм, число долек в ядре редко превышает 2. Гранулы базофилов обладают метахромазией, окрашиваясь в различные оттенки синего и фиолетового цветов. Метахромазия связана с регулярной ориентацией молекул, которые обладают дихроизмом, по-разному поглощая поляризованный свет. Метахромазия гранул базофилов свидетельствует о высокой регулярности их ультраструктуры.

Базофилов содержится в периферической крови не более 50 клеток на 1 мкл. Однако их может быть гораздо больше в рыхлой волокнистой соединительной ткани, где они выступают под именем тучных клеток (лаброцитов). Гранулы базофилов содержат гистамин и другие медиаторы воспаления, которые выделяются из клетки в ответ на поступление чужеродных веществ – антигенов.

Моноциты – самые крупные клетки крови, их диаметр достигает 12–15 мкм. Ядро клетки имеет бобовидную форму, оно не расчленено на сегменты. В цитоплазме хорошо развиты пластинчатый комплекс и лизосомы, присутствуют также включения липидов и гликогена. Цитоплазма базофильная,

без специфической зернистости, хотя имеется небольшое количество азурофильных гранул.

Количество моноцитов в крови равно 400–500 на 1 мкл. Они находятся здесь в неактивной форме. При активации, которая у высших позвоночных происходит только вне сосудистого русла, моноциты превращаются в макрофаги, способные к активному перемещению и фагоцитозу. Макрофаги способны преобразовывать и представлять другим защитным клеткам антигены, стимулировать их пролиферацию и выработку антител, фагоцитировать комплексы антител с антигенами и погибшие клетки.

Лимфоциты составляют до 30 % от общего числа лейкоцитов, занимая по количеству в крови второе место после нейтрофилов – около 2 000 клеток на 1 мкл. Диаметр клетки варьирует в пределах 7–12 мкм. Большую часть лимфоцита занимает округлое несегментированное ядро, слабо базофильная цитоплазма окружает его узкой асимметрической лентой. Органоидов в цитоплазме мало. Различают малые, средние и большие лимфоциты. Малые лимфоциты относятся к клеткам, осуществляющим реакции клеточного иммунитета. Они отличаются крестообразным распределением гетерохроматина и тонким слоем цитоплазмы вокруг ядра. Изредка в малых лимфоцитах можно увидеть в цитоплазме азурофильную гранулу. Малые лимфоциты составляют около 65 % от общего числа лимфоцитов периферической крови. Средние лимфоциты, доля которых в крови равна 20 %, имеют больше цитоплазмы, их характерным признаком является тонкий светлый ободок вокруг ядра. Морфология ядер также иная, чем у малых лимфоцитов, гетерохроматин в основном концентрируется у нуклеолеммы. Большие лимфоциты отличаются ядром с выемкой, наличием пластинчатого комплекса и нескольких азурофильных гранул.

В функциональном плане лимфоциты подразделяются на два типа: В-лимфоциты, обеспечивающие гуморальный иммунитет, и Т-лимфоциты, которые осуществляют реакции клеточного иммунитета. В-лимфоциты созревают в красном костном мозгу. На поверхности этих клеток имеются особые белки-рецепторы, которые способны распознавать антигены. Они построены из белка иммуноглобулина класса М или D (IgM/D). В-лимфоциты после распознавания и активации превращаются в плазматические клетки (плазмоциты), которые являются продуцентами антител. Тем самым В-лимфоциты обеспечивают осуществление гуморального звена иммунной реакции.

Т-лимфоциты созревают в тимусе (вилочковой, или зубной, железе). На своей поверхности они также имеют рецепторы (ТКР), способные распознавать антигены, но они другой структуры, чем у В-лимфоцитов. Т-лимфоциты осуществляют «двойное распознавание», одновременно с антигеном определяя метку его происхождения. Некоторые Т-клетки (цитотоксические лимфоциты) могут непосредственно уничтожать чужие или собственные переродившиеся клетки, но в основном они контролируют деятельность В-лимфоцитов.

Т-лимфоциты представлены тремя функционально различными субпопуляциями: Т-хелперами, Т-супрессорами и ЕК-клетками. Т-хелперы, одновременно с В-лимфоцитами распознавая антиген, стимулируют пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов в плазмоциты. Т-супрессоры также параллельно

В-лимфоцитам и Т-хелперам распознают антиген, но в случае несовпадения результатов опознания, подавляют действие Т-хелперов. Таким образом, как В-лимфоциты, так и Т-лимфоциты одновременно участвуют в иммунном ответе, но деятельность Т-лимфоцитов носит в большей степени регуляторный характер. Столь жесткий контроль защитных реакций связан с тем, что при ошибочном опознании может возникнуть аутоиммунное заболевание, обусловленное повреждением собственных клеток и тканей. Такие нарушения происходят, например, при ревматизме, когда антитела повреждают соединительную ткань. ЕК-клетки в отличие от других Т-лимфоцитов не имеют ТКР и поэтому не способны распознавать чужеродные вещества. Однако они с помощью специальных рецепторов способны распознавать и уничтожать раковые клетки.

Морфологически В-лимфоциты, Т-лимфоциты и тем более субпопуляции Т-лимфоцитов не различимы. Их можно идентифицировать только методом розеткообразования с эритроцитами барана или иммуноцитохимически по наличию на поверхности клетки специфического набора рецепторов. Принцип первого метода заключается в том, что эритроциты барана прикрепляются к Т-лимфоцитам, формируя «спонтанные розетки». В-лимфоциты также способны формировать розетки, но только в присутствии комплемента («комплементзависимые розетки»). Способность лимфоцитов к образованию розеток связана с наличием особых рецепторных белков на их поверхности. В последнее время для идентификации субпопуляций лимфоцитов стал применяться более точный и производительный иммуноцитохимический метод. Он основан на использовании моноклональных антител, способных тонко дифференцировать репертуар белков на поверхности лимфоцитов. При этом анализируются следующие детерминанты клеточной поверхности – IgM/D, ТКР, CD3, CD4 и CD8 (таблица 8).

Таблица 8 – Иммуноцитохимические свойства лимфоцитов.

Тип клетки/рецептор	IgM/D	ТКР	CD3	CD4	CD8
В-лимфоцит	+				
Т-хелпер		+	+	+	
Т-супрессор		+	+		+
ЕК-клетка			+		

Кровяные пластинки (тромбоциты) представляют собой безъядерные образования округлой формы диаметром 2–3 мкм. В мазке крови они, как правило, образуют скопления, обладая выраженной склонностью к агрегации. В центре кровяной пластинки находится базофильный грануломер (хромомер). Слабо окрашенная периферия тромбоцита называется гиаломер. Внутри клетки обнаруживаются митохондрии, мембраны плазматической сети и большое число микротрубочек, а для плазмолеммы характерны тонкие выросты. Количество пластинок в периферической крови достигает 200 тыс. на 1 мкл.

Кровяные пластинки обеспечивают свертывание крови, принимая участие в формировании и последующем сжатии (ретракции) кровяного сгустка. При этом

они склеиваются между собой и со стенкой поврежденного сосуда. Резкое падение числа кровяных пластинок (тромбопения) приводит к тому, что кровь утрачивает способность сворачиваться и появляются спонтанные точечные кровоизлияния, которые могут спровоцировать нарушение функций жизненно важных органов. Следует отметить, что за последние 40 лет наблюдается постепенное снижение количества кровяных пластинок у здоровых людей.

### *Гистогенез крови*

Гистогенез крови принято называть гемопоэзом. Все клетки крови происходят от единой популяции стволовых кроветворных клеток, которая находится в красном костном мозгу.

Полипотентная стволовая кроветворная клетка (СКК) воспроизводит такие же стволовые клетки и одновременно коммитированное потомство. Коммитированное потомство СКК формирует вначале пролиферирующую популяцию полипотентных клеток-предшественниц, которые дают начало пролиферирующим унипотентным клеткам-родоначальницам. Унипотентные клетки в свою очередь дифференцируются в созревающие клетки, которые заканчивают пролиферацию и превращаются в зрелые клетки крови. Этапы гемопоэза, начиная от СКК и заканчивая унипотентными клетками-родоначальницами, морфологически не различимы. Они исследуются с помощью современных иммуноцитохимических методов аналогично субпопуляциям лимфоцитов. Популяции созревающих и зрелых клеток морфологически распознаются по особенностям структуры ядра и цитоплазмы.

Классическим методом экспериментального изучения гемопоэза является метод селезеночных колоний Тилла и МакКаллоха (1961). Принцип метода заключается в том, что мышью облучают летальной дозой рентгеновских лучей (900–1000 рад), после чего им инокулируют клетки костного мозга необлученных сингенных животных. Сингенными называются животные, имеющие одинаковый генотип по главному комплексу гистосовместимости и поэтому между ними возможна пересадка тканей без отторжения. После инокуляции клеток костного мозга в селезенке реципиентов появляются колонии диаметром 1–2 мм, состоящие из донорских клеток. Селезеночные колонии могут состоять из одного типа клеток, например, предшественников эритроцитов или гранулоцитов, а могут быть гетерогенными и состоять из разных типов клеток. Гомогенные колонии образованы потомством унипотентных клеток, а – потомством полипотентных клеток. Метод селезеночных колоний может также применяться на сублетально облученных мышях, у которых будут формироваться колонии из собственных клеток-предшественниц. Соответствующие составу колоний клетки-предшественницы обозначаются как колониеобразующие единицы, или КОЕ.

Эритропоэз. СКК дает коммитированное потомство, которое называется клетками-предшественницами миелопоэза (КОЕ-ГЭММ). Последние, в свою очередь, через клетки-родоначальцы миелопоэза КОЕ-ГЭ дают унипотентные эритропоэтинчувствительные клетки – БОЕ-Э. Они способны к усилению пролиферации под влиянием гормона эритропоэтина, поэтому называются бурстобразующими единицами (бурст – взрыв). Затем последовательно дифференцируются эритробласты, пронормобласты и нормобласты.

Нормобласты бывают трех типов – базофильные, полихроматофильные и оксифильные. Сначала из пронормобластов дифференцируются базофильные нормобласты. Они отличаются округлым базофильным ядром и базофильной цитоплазмой, высокой пролиферативной и метаболической активностью. В базофильных нормобластах начинается синтез специфического для эритроцитов белка – гемоглобина. Появляющиеся позднее полихроматофильные нормобласты имеют округлые уменьшенные по сравнению с базофильными нормобластами ядра. В их цитоплазме участки, где накапливается гемоглобин, приобретают оксифилию. Полихроматофильные нормобласты переходят в оксифильные нормобласты, которые представляют собой овальные клетки, на одном конце которых находится небольшое округлое ядро с крестообразным распределением гетерохроматина (как у плазмоцитов). Цитоплазма этих клеток оксифильная, содержит много гемоглобина. Оксифильные нормобласты утрачивают способность к делению. Оксифильные нормобласты превращаются в безъядерные ретикулоциты. В этих клетках еще сохраняются остатки гранулярной плазматической сети, которые придают цитоплазме тонкий базофильный рисунок. Из ретикулоцитов образуются зрелые клетки – эритроциты.

Общие тенденции в дифференцировке эритроцитов заключаются в уменьшении размеров и лизисе клеточного ядра, а также приобретение цитоплазмой оксифильного характера из-за накопления большого количества гемоглобина.

Гранулоцитопоз. СКК порождают КОЕ-ГЭММ, которые превращаются в КОЕ-ГЭ и далее в миелобласты. Эти этапы гранулоцитопоза морфологически не различаются. Миелобласты дают три субпопуляции клеток – нейтрофильные, эозинофильные и базофильные промиелоциты. Промиелоциты имеют округлые ядра и базофильную цитоплазму, в которой появляется азурофильная зернистость. Дальнейшая дифференцировка субпопуляций промиелоцитов идет параллельно друг другу. В результате промиелоциты дают три разновидности миелоцитов. В цитоплазме миелоцитов начинает накапливаться специфическая зернистость, а число азурофильных гранул снижается. В ядрах миелоцитов появляются плотные глыбки гетерохроматина, но клетки еще способны делиться. Миелоциты далее дифференцируются в метамиелоциты (юные лейкоциты). При этом ядро становится палочковидным или подковообразным, и клетка утрачивает способность к делению. Переход в зрелые гранулоциты сопровождается накоплением специфической зернистости и сегментацией ядра.

Таким образом, при гранулоцитопозе наблюдается уменьшение размеров и сегментация ядер и накопление в цитоплазме зернистости, характер которой специфичен для каждого из трех типов клеток.

Тромбоцитопоз. СКК порождают КОЕ-ГЭММ, которые превращаются последовательно в предшественницы миелопоэза, тромбопоэтин-чувствительные клетки и мегакариобласты. Мегакариобласты проходят ряд клеточных циклов без деления, в результате чего клетки увеличиваются в размерах и превращаются в промегакариоциты. По мере полиплоидизации и дифференцировки цитоплазмы промегакариоциты становятся гигантскими клетками костного мозга – мегакариоцитами. Мегакариоциты имеют диаметр 40–50 мкм, многолопастное ядро

и слабо базофильную цитоплазму с азурофильными зернами. Они содержат 32 или 64 набора хромосом. Плазмолемма мегакариоцитов может формировать выросты, которые входят в поры капилляров костного мозга – фенестры, где от них отделяются кровяные пластинки. Этот процесс носит название клазматоза. Основными особенностями дифференцировки кровяных пластинок являются полиплоидизация, накопление в цитоплазме азурофильной зернистости и клазматоз.

Лимфоцитопоэз. В-лимфоциты берут свое начало в красном костном мозгу из СКК. Сначала СКК порождают унипотентных предшественниц В-лимфоцитов, которые превращаются затем в пре-В-лимфоциты. Эти клетки отличаются тем, что в их цитоплазме можно обнаружить тяжелые цепи иммуноглобулина класса  $\mu$ , являющиеся основой для построения антиген-распознающего рецептора. Пре-В-лимфоциты превращаются далее в незрелые В-лимфоциты, которые экспрессируют на своей поверхности антиген-распознающие рецепторы. Эти рецепторы состоят из одной легкой и одной тяжелой цепи иммуноглобулинов класса М или D. Незрелый В-лимфоцит еще не способен активироваться при встрече с антигеном. Это свойство он приобретает по выходе из красного костного мозга в кровотоки, превращаясь в зрелую клетку.

В периферической крови содержится около 400 В-лимфоцитов в 1 мкл. Однако там они находятся в неактивном состоянии. Для активации эти клетки должны выйти в периферические лимфоидные органы (селезенку, лимфатические узлы, небные миндалины, аппендикс), где они формируют большие скопления – лимфоидные фолликулы.

Процесс активации В-лимфоцитов при встрече с антигеном носит название антигензависимой дифференцировки В-лимфоцитов. Она начинается при встрече клетки со специфически распознаваемым ей антигеном. При этом В-лимфоцит утрачивает свой антиген-распознающий рецептор и путем деления порождает клеточный клон, который обнаруживается в центральной части лимфоидного фолликула в виде скопления светлых лимфоидных клеток – зародышевого центра. В процессе клональной прогрессии происходит повторная активация генов, контролирующих структуру иммуноглобулинового рецептора, но с включением механизма гипермутабельности участка гена, который контролирует антигенсвязывающий центр. Клональная прогрессия клеток сопровождается отбором их по специфичности распознавания антигена. В результате появляются клетки с рецептором, который способен более эффективно связывать антиген, чем рецептор порождающего клон В-лимфоцита. Не прошедшие отбора клетки погибают путем апоптоза и фагоцитируются макрофагами. Отселектированные клетки смещаются на край лимфоидного фолликула, где они формируют более темную мантийную зону. Часть лимфоцитов уходит в дальнейшем из фолликула и превращается в плазмциты. Секретируемые плазмцитами антитела накапливаются в плазме крови и способны связывать большое количество антигена, который в дальнейшем утилизируется макрофагами. Другая часть лимфоцитов формирует популяцию клеток памяти.

Таким образом, гуморальный иммунный ответ, сопровождающийся синтезом антител, обеспечивается антигензависимой дифференцировкой В-лимфоцитов в лимфоидных фолликулах. Динамика этого процесса, который называется в

иммунологии первичным иммунным ответом, не зависит от специфичности антигена и его количества. Первые плазмоциты появляются на 3 день после встречи лимфоцита с антигеном, а максимальная концентрация антител достигается только к концу второй недели. Однако при повторном поступлении в организм этого же антигена за счет ускоренной дифференцировки плазмоцитов из клеток памяти высокие концентрации антител достигаются уже в течение 1-2 суток. Это явление лежит в основе вторичного иммунного ответа.

В отличие от всех других клеток крови Т-лимфоциты образуются в тимусе (вилочковой, или зобной железе). Тимус находится в переднем средостении под щитовидной железой и состоит из двух крупных долей, образованных более мелкими дольками.

Каждая доля тимуса состоит из соединительнотканной капсулы, под которой находится пронизанная капиллярами эпителиальная строма. Эпителий тимуса заселен большим количеством лимфоидных клеток – тимоцитов. Распределение тимоцитов в доле неравномерное: на периферии у капсулы число тимоцитов настолько большое, что они полностью закрывают эпителиальную строму, тогда как ближе к центру эпителий заметен хорошо. Зона с более высокой плотностью тимоцитов называется корковым веществом, а с менее высокой плотностью – мозговым веществом. Выделяют также субкапсулярную зону на границе капсулы и коркового вещества, а также кортико-медуллярную зону на границе коркового и мозгового вещества. Кортико-медуллярная зона богата капиллярами, на которых фиксированы макрофаги.

Источником Т-лимфоцитов также является СКК. Однако коммитированный потомок СКК выходит из костного мозга и мигрирует по кровотоку в субкапсулярную зону тимуса. В ходе дифференцировки тимоциты субкапсулярной зоны приобретают детерминанту CD3. Затем часть клеток начинает экспонировать ТКР, а остальные дифференцируются в ЕК-клетки. Синтез компонентов ТКР и их сборка находятся под контролем «клеток-нянек» эпителиальной стромы. Не прошедшие «позитивного» отбора тимоциты погибают путем апоптоза. После «позитивного» отбора появляются «дубль-положительные» тимоциты, одновременно экспрессирующие детерминанты CD4 и CD8. Эти клетки проходят «негативный» отбор на способность реагировать на антигены своего организма. При наличии такой способности они также элиминируются путем апоптоза. Прошедшие оба вида отбора клетки дифференцируются на субпопуляции путем выключения CD4 или CD8 и выходят из кортико-медуллярной зоны в грудной лимфатический проток. В лимфатической системе под воздействием тимусных гормонов Т-лимфоциты окончательно созревают, образуя три основных субпопуляции: Т-хелперы, Т-супрессоры и ЕК-клетки. Зрелые Т-лимфоциты мигрируют в периферические лимфоидные органы, где формируют тимусзависимые зоны вокруг сосудов вблизи лимфоидных фолликулов. При развитии иммунного ответа клетки тимусзависимой зоны мигрируют в лимфоидный фолликул для контроля антигензависимой дифференцировки В-лимфоцитов.

## 1.11. Мышечные ткани

Мышечные ткани объединяются в единую группу по способности к сокращению. Несмотря на морфофункциональное разнообразие, они всегда содержат специализированные органоиды – миофибриллы, которые являются специализированным производным микрофиламентозного компонента цитоскелета. Мышечные ткани обеспечивают поддержание позы и движение организма, а также сокращение внутренних органов. Эти ткани тесно связаны с нервной системой, которая управляет их работой. Наиболее распространен морфофизиологический принцип классификации мышечных тканей (таблица 9).

Таблица 9 – Морфофизиологическая классификация мышечных тканей.

	Гладкая	Скелетная	Сердечная
Локализация	внутренние органы	скелетная мускулатура	сердце
Строение	клеточное	симпластическое	клеточное
Миофибриллы	без исчерченности	исчерченные	исчерченные
Источник развития	спланхнотом	миотомы сомитов	спланхноплевра
Сокращения	непроизвольные	произвольные	непроизвольные

Н. Г. Хлопин предложил расширенную классификацию мышечных тканей, главным критерием которой является их происхождение в эмбриогенезе (таблица 10).

Таблица 10 – Гистогенетическая классификация мышечных тканей.

Эктодермальная ткань		Мезодермальная ткань		
эпидермальная	нейральная	спланхнотомная	миотомная	целомическая
гладкие мышечные клетки экзокринных желез	гладкие мышечные клетки радужной оболочки	гладкие мышечные клетки во внутренних органах и сосудах	поперечно-полосатые мышечные волокна	поперечно-полосатые сердечные мышечные клетки

### 1.11.1. Поперечно-полосатая мышечная ткань

Структурной единицей поперечно-полосатой (скелетной, или соматической) мышечной ткани служит многоядерный симпласт – мышечное волокно, или мион. Он имеет форму вытянутого цилиндра диаметром несколько сотен микрометров и длиной до 10 см. Мышечное волокно покрыто сарколеммой, состоящей из двух слоев. Внутренний слой представлен плазмолеммой толщиной около 10 нм. Наружный слой образован базальной пластинкой толщиной 30–50 нм, которая отстоит от плазмолеммы на 15–25 нм и связана с коллагеновыми волокнами окружающей соединительной ткани. Между внутренним и наружным слоями сарколеммы встречаются малодифференцированные одноядерные клетки –

миосателлиты, которые обеспечивают восстановление миона после повреждения. Соединительнотканная оболочка миона называется эндомизием. Группы мионов имеют дополнительную оболочку – перимизий, а вся мышца покрыта снаружи эпимизием, или фасцией. Соединительнотканнные оболочки мышц содержат кровеносные сосуды и капилляры, а также нервные окончания.

В цитоплазме (саркоплазме) миона непосредственно под плазмолеммой находится множество ядер, в центре расположены пучки миофибрилл, между ними – многочисленные митохондрии, развитая гладкая плазматическая сеть и другие органоиды.

Сократительные элементы миона представлены миофибриллами, которые заполняют большую часть его объема. Диаметр миофибриллы составляет 0,5–2 мкм, а длина совпадает с длиной миона. Миофибриллы обладают поперечной исчерченностью, что проявляется в чередовании по их длине темных анизотропных и светлых изотропных участков. Анизотропный диск (А-диск) обладает двойным лучепреломлением – способностью расщеплять свет на два ортогонально поляризованных луча с различными коэффициентами преломления. Изотропный диск (I-диск) такой способностью не обладает. Длина А-диска составляет 1,5–2 мкм, тогда как длина I-диска варьирует в пределах 0,7–1,4 мкм в зависимости от стадии сокращения миона. Оптические свойства миофибриллы определяются высокой регулярностью ее на молекулярном уровне.

Структурно-функциональной единицей миофибриллы является саркомер. Его границами служат Z-полоски (телофрагмы), которые расположены перпендикулярно оси миофибриллы в середине I-диска. В середине А-диска находится несколько более светлая H-полоска. К состоящей из десмина Z-полоске с помощью  $\alpha$ -актинина прикреплены тонкие протофибриллы толщиной 5–7 нм. В А-диске локализованы толстые протофибриллы диаметром 10–25 нм. Пространственное расположение протофибрилл таково, что каждая толстая протофибрилла окружена шестью тонкими протофибриллами.

Тонкая протофибрилла представляет собой спираль, которая образована двумя нитями фибриллярного актина. Каждая из нитей состоит из молекул глобулярного актина диаметром около 5 нм и молекулярной массой 45 кД. В бороздке между нитями актина находятся две переплетенные нити белка тропомиозина. К концам молекул тропомиозина дополнительно прикреплены молекулы глобулярного белка тропонина, состоящие из трех субъединиц. Длина тонких протофибрилл достигает 1 мкм.

Толстая протофибрилла образована механохимическим белком миозином. Молекула миозина имеет форму клюшки для игры в гольф. Размер ее равен  $150 \times 3$  нм, молекулярная масса – 460 кД. Она состоит из четырех субъединиц, образующих двойную головку, шейку и длинный хвост. Молекула миозина способна связывать кальций и, затрачивая АТФ, изменять взаимное расположение субъединиц. В состав толстой протофибриллы входит 300 молекул миозина, которые разделены на две группы с противоположной ориентацией. Длина миозиновой протофибриллы достигает 1,5–2 мкм.

Таким образом, А-диск содержит как тонкие, так и толстые протофибриллы, тогда как I-диск состоит только из тонких протофибрилл. В состав саркомера входят  $\frac{1}{2}$  I-диска + А-диск +  $\frac{1}{2}$  I-диска.

Сокращение миофибриллы согласно теории скользящих нитей обеспечивается взаимодействием актина и миозина, при котором тонкие нити втягиваются между толстыми нитями. В результате этого наблюдается сжатие I-диска. Процесс скольжения запускается кальцием и обеспечивается периодическими конформационными изменениями молекул миозина при взаимодействии их с тонкими протофибриллами.

Трофические элементы миона представлены саркоплазматической сетью, митохондриями, включениями запасных питательных веществ и растворенным в гиалоплазме дыхательным белком миоглобином. Саркоплазматическая сеть состоит из каналов Т-системы и цистерн, каналов и пузырьков L-системы. Каналы Т-системы представляют собой глубокие и узкие инвагинации плазмолеммы миона, которые доходят до пучков миофибрилл на уровне границы между дисками. Мембранные структуры L-системы образованы гладкой плазматической сетью, которая в мионе служит резервуаром для кальция. Мембраны каналов Т-системы на своих концах непосредственно примыкают к мембранам цистерн L-системы, формируя «триаду». По приходе нервного импульса по каналу Т-системы волна деполяризации распространяется в триаде на мембраны L-системы. Это вызывает быстрый выход кальция в гиалоплазму, где он достигает миофибрилл, связывается головками миозина и запускает процесс сокращения. После сокращения кальций откачивается в L-систему с помощью встроенных в ее мембраны кальциевых насосов.

Сокращение миона требует расхода большого количества энергии, которая вырабатывается расположенными вокруг миофибрилл митохондриями. Для обеспечения непрерывной работы митохондрий в гиалоплазме содержится миоглобин, который запасает кислород и отдает его в условиях гипоксии. Особенно много миоглобина у морских млекопитающих, способных нырять на большую глубину.

Среди мионов существует определенная функциональная специализация, которая связана с характером выполняемой мышцами работы. Например, у человека и млекопитающих выделяют быстрые, но менее выносливые белые мионы и медленные, но более пластичные красные мионы (таблица 11) .

Таблица 11 – Белые и красные мионы млекопитающих.

Свойство	Белые мионы	Красные мионы
диаметр	большой	небольшой
миоглобин	мало	много
митохондрии	мало	много
липиды	мало	много
гликоген	много	мало
кровообращение	слабое	сильное
сокращение	сильное и быстрое	слабое и медленное

### 1.11.2. Сердечная мышечная ткань

Из сердечной мышечной ткани состоит только один орган – сердечная мышца, или миокард. Она образована тесно связанными между собой клетками – кардиомиоцитами, которые располагаются цепочками друг за другом. Различают рабочие, проводящие и секреторные кардиомиоциты.

Наиболее многочисленными являются в миокарде рабочие (сократительные) кардиомиоциты. Они имеют цилиндрическую форму, причем в отличие от мионов ядра в них расположены в центре, а миофибриллы смещены на периферию. Миофибриллы сердечной мышечной ткани обладают поперечной исчерченностью, их строение такое же, как в миомах скелетной мускулатуры. Рабочие кардиомиоциты отличаются высоким содержанием митохондрий, кристы которых располагаются вдоль оси и могут ветвиться. Саркоплазматическая сеть развита слабее, чем в миомах, она имеет вид каналов и цистерн, ориентированных вдоль миофибрилл.

Следующие друг за другом кардиомиоциты прочно связаны между собой при помощи вставочного диска (вставочной полоски). В области вставочного диска граница клеток неровная, с многочисленными выступами. Между плазмолеммами соседних клеток имеется пространство шириной 20–30 нм. С внутренней стороны клетки утолщенный участок плазмолеммы сливается с Z-полоской миофибриллы. Совпадение Z-полоски с границей клетки в области вставочного диска позволяет сохранить последовательность саркомеров в миофибриллах соседних клеток и объединить их сократительные структуры в единое целое.

Кроме вставочных дисков кардиомиоциты соединяются между собой с помощью десмосом, а также плотных и щелевых контактов. Каждый ряд кардиомиоцитов покрыт базальной пластинкой и прослойкой соединительной ткани, в которой проходят кровеносные капилляры и нервные волокна. Эти одинарные ряды кардиомиоцитов раньше назывались «волокнами Пуркинье».

Проводящие кардиомиоциты образуют атипичную мускулатуру миокарда, которая обеспечивает распространение волны сокращения. От рабочих клеток они отличаются высоким содержанием гликогена и лизосом, сниженным числом митохондрий и миофибрилл. В них отсутствуют каналы Т-системы, но клетки хорошо иннервированы. Благодаря проводящей системе сердце обладает способностью к автономным сокращениям, а нервная система регулирует только их интенсивность и частоту. Исходная частота сердечных сокращений задается водителем ритма сердца, затем волна сокращения распространяется с предсердий на желудочки. В проводящую систему сердца входят синусо-предсердный узел Кис-Фляка, предсердно-желудочковый узел Ашофф-Тавара и предсердно-желудочковый пучок Гисса.

Эндокринные (секреторные) сердечные мышечные клетки расположены в предсердиях. Они отличаются звездчатой формой и малым числом миофибрилл. В цитоплазме секреторных кардиомиоцитов обнаруживаются гранулы диаметром 200–300 нм, которые содержат предсердный натрийуретический пептид (ПНП). Этот регулятор улучшает условия работы миокарда при высоких нагрузках, вызывая усиленное выведение натрия и воды с мочой, а также расширяя сосуды и снижая артериальное давление.

### **1.11.3. Гладкая мышечная ткань**

Гладкая мышечная ткань образует мышечные оболочки сосудов, стенки желудка, кишечника, мочевого пузыря, матки и многих других органов. Структурной единицей этого типа мышечных тканей является гладкая мышечная клетка. Гладкая мышечная клетка имеет веретеновидную форму. Длина ее составляет от 20 до 500 мкм, диаметр 1–20 мкм. В цитоплазме обнаруживаются тонкие актиновые и толстые миозиновые нити, которые, однако, не образуют упорядоченных структур. Поэтому гладкая мускулатура не обладает поперечной исчерченностью. Тонкие актиновые протофибриллы прикреплены к плазмолемме и мембранам плазматической сети и ориентированы вдоль оси клетки.

Ядро у гладкой мышечной клетки одно, располагается в центре. В цитоплазме кроме протофибрилл содержатся в большом количестве мелкие пузырьки с кальцием, которые выполняют функции саркоплазматической сети. Кроме того, имеются митохондрии, пластинчатый комплекс, включения гликогена и другие органоиды. Снаружи гладкая мышечная клетка покрыта базальной пластинкой, к которой прикреплены нити коллагеновых и ретикулярных волокон. Эти клетки часто формируют группы, окруженные соединительнотканной оболочкой с сосудами и нервами.

### **1.11.4. Гистогенез мышечных тканей**

Скелетная (соматическая) мускулатура образуется из миотомов сегментированной мезодермы. Миотомы состоят из удлинённых клеток – миобластов, которые способны делиться митозом. Во время эмбриогенеза миобласты сначала мигрируют в диффузную мезодерму – мезенхиму, где они образуют закладки будущих мышц. Затем они выстраиваются в цепочки и сливаются друг с другом, формируя миотубы. Некоторая часть миобластов сохраняется в малодифференцированном состоянии в виде миосателлитов. Дифференцировка миотуб сопровождается их ростом, ядра при этом выстраиваются цепочкой по центру симпласта, а в цитоплазме появляются тонкие и толстые протофибриллы. По мере роста миотуб расположение протофибрилл постепенно становится упорядоченным. При этом происходит перемещение ядер на периферию, а их место занимают формирующиеся миофибриллы. Одновременно из многочисленных мелких пузырьков создается саркоплазматическая сеть. Такая реорганизация саркоплазмы означает переход миотуб в незрелые мионы. Дальнейший рост миона обеспечивается как делением его ядер, так и слиянием с ним миосателлитов. Созревание миона заканчивается дифференцировкой структурных элементов саркомеров.

Физиологическая и репаративная регенерация мышечных волокон в целом напоминает их гистогенез. Она обеспечивается главным образом миобластами, которые образуются из миосателлитов.

Сердце закладывается в виде двух симметрично расположенных сосудов мезенхимального происхождения. Затем эти сосуды сливаются вместе и образуют участком висцерального листка спланхнотома – миоэпикардальной пластинкой. Миокард образуется из внутренней части миоэпикардальной пластинки. При формировании миокарда клетки мезодермы постоянно пролиферируют, хотя величина пролиферативного пула постепенно снижается, а

длительность клеточного цикла увеличивается. Некоторые клетки при этом становятся полиплоидными. Одновременно наблюдается удлинение клеток, в их цитоплазме появляются миофибриллы. По мере дифференцировки миокарда формируются вставочные диски и другие типы межклеточных контактов. Из клеток мезенхимы образуются соединительнотканые прослойки между кардиомиоцитами, в которые врастают сосуды и нервы. Регенерация миокарда при инфаркте осуществляется лишь частично. В поврежденном участке возникает рубец из соединительной ткани, а сохранившиеся поблизости кардиомиоциты делятся митозом или подвергаются гипертрофии.

Гладкая мускулатура развивается из мезенхимы. При этом звездчатые мезенхимальные клетки удлиняются, в их цитоплазме появляются протофибриллы. Постепенно клетки приобретают способность к сокращению. Гладкая мускулатура способна к регенерации путем размножения и гипертрофии зрелых клеток, а также за счет дифференцировки клеток-предшественниц

## **1.12. Нервная ткань**

Нервная ткань образует нервную систему, которая наряду с эндокринной и иммунной обеспечивает регуляцию деятельности клеток во всем организме. Функции нервной системы состоят в получении, хранении и обработке информации из внешней среды внутренних органов, а также выработке управляющих сигналов для координации работы физиологических систем.

По расположению нервная система подразделяется на центральную и периферическую, а по характеру передаваемых ею сигналов – на соматическую (произвольные действия) и вегетативную (непроизвольные действия).

### **1.12.1. Клетки нервной ткани**

Нервная ткань построена исключительно из клеток, межклеточного вещества у нее почти нет. Клетки нервной ткани подразделяются на два типа – нейроны (нейроциты) и глиоциты (нейроглия). Нейроны способны генерировать и проводить нервные импульсы, тогда как нейроглия обеспечивает вспомогательные функции. Нервная ткань имеет эктодермальное происхождение, достаточно рано обособляясь в эмбриогенезе в виде нервной трубки.

Нейроны представляют собой крупные отростчатые клетки, причем многие из них полиплоидные. Тело нейрона называется перикарионом. Он содержит крупное округлое ядро с мелкодисперсным хроматином и 1–2 ядрышка. В цитоплазме (нейроплазме) имеются многочисленные митохондрии и пластинчатый комплекс диффузного типа с множеством диктиосом, окружающих ядро. В нейроплазме при специальных методах окрашивания обнаруживаются два вида структур, характерных только для нейронов – тигроид (вещество Ниссля) и нейрофибриллы.

В световом микроскопе тигроид наблюдается в виде базофильных пятен различного размера и плотности, заполняющих перикарион. При использовании электронного микроскопа становится очевидным, что на ультраструктурном уровне тигроид состоит из уплощенных цистерн гранулярной плазматической сети. К цистернам с наружной стороны прикреплены многочисленные рибосомы.

Наличие подобных структур в нейроне свидетельствует об интенсивном синтезе белков. Нейрофибриллы выявляются в нейронах после обработки солями серебра. Они образованы промежуточными филаментами (нейрофиламентами) и микротрубочками. Нейрофибриллы в отличие от тигроида находятся не только в перикарионе, но и в отростках. Эти структуры формируют в нейроне мощную систему внутриклеточного транспорта, обеспечивающего перемещение везикул на периферию отростков (антероградный транспорт) и обратно (ретроградный транспорт). Специфическим моторным белком в этом транспорте служит аналог динеина кинезин.

Нейроны классифицируют по числу отростков на униполярные, псевдоуниполярные, биполярные и мультиполярные. У человека наиболее часто встречаются биполярные нейроны – клетки с двумя отростками.

Отростки у нейронов бывают двух видов – аксоны и дендриты. Аксон (нейрит) в нейронах позвоночных всегда один. Он начинается в перикарионе с небольшого расширения, которое называется аксональным холмиком. Его легко отличить от остальной части перикариона по отсутствию тигроида. Аксон не ветвится и может достигать длины до 1,5 м. В цитоплазме аксона имеются многочисленные микротрубочки, каналцы гладкой плазматической сети, митохондрии и мелкие пузырьки. В области аксонального холмика возникает нервный импульс, который движется на периферию аксона. Поэтому аксоны называются двигательными (центробежными, или эфферентными) отростками. В физическом плане нервный импульс представляет собой волну деполяризации плазмолеммы нейрона (потенциал действия). Дендриты отличаются от аксонов способностью ветвиться, а также наличием боковых выступов – шипиков. Последние представляют собой выступы плазмолеммы дендрита, которые содержат систему плоских цистерн и мембран, ориентированных перпендикулярно поверхности. Шипики участвуют в формировании межнейронных контактов, но, какие при этом они выполняют функции, остается неизвестным. Дендритов в нейроне может быть несколько. Этот вид отростков способен генерировать нервный импульс на периферии и проводить его к перикариону. Поэтому дендриты называются чувствительными (центростремительными, или афферентными) отростками. Нейроны с помощью аксонов и дендритов связаны в нервной системе в сложные сетевые структуры, которые могут с высокой скоростью обрабатывать большие объемы информации.

В нервной системе встречаются также особые нейроны, которые называются нейросекреторными клетками. Секретируемые ими пептиды синтезируются в перикарионе тигроидом и оформляются пластинчатым комплексом в секреторные гранулы, которые перемещаются по аксону на периферию. Концевые разветвления аксонов нейросекреторных клеток, заканчивающиеся на базальной пластинке капилляров, выделяют эти гормоны в кровь.

У человека нейросекреторные клетки сконцентрированы в гипоталамусе, где их перикарионы образуют супраоптическое и паравентрикулярное ядра. В гипоталамусе происходит секреция либеринов и статинов – пептидных гормонов, которые контролируют аденогипофиз. Аксоны нейросекреторных клеток

гипоталамуса направляются в заднюю и промежуточную доли гипофиза, где они выделяют ряд других гормонов.

В отличие от нейронов глиальные клетки нервной ткани не способны генерировать и проводить нервные импульсы. Однако они не менее важны для нормальной работы нервной системы, выполняя такие функции как опорная, изолирующая, разграничительная, трофическая, гомеостатическая, репаративная и защитная (таблица 12).

Таблица 12 – Классификация и функции клеток нейроглии.

Макроглия	Микроглия
Астроциты (формируют гематоэнцефалический барьер)	защитные
Эпендимоциты (выстилают желудочки и канал мозга)	функции
Олигодендроциты (питают и изолируют нейроны)	

Астроцитарная глия представлена плазматическими и волокнистыми астроцитами (астроглиоцитами). Плазматические астроциты находятся в сером веществе мозга, имеют перикарион диаметром 15–20 мкм с крупным овальным ядром, а также короткие широкие отростки, которые заканчиваются на сосудах, нейронах и олигодендроцитах. Гранулярная плазматическая сеть развита у астроцитов слабо, микротрубочек и промежуточных филаментов мало, однако имеются многочисленные митохондрии и включения гликогена. Волокнистые астроциты находятся в белом веществе мозга. Они имеют перикарион диаметром 10–20 мкм и многочисленные дихотомически ветвящиеся тонкие отростки. Длинные отростки этих клеток заканчиваются на сосудах, а короткие отростки контактируют с мягкой оболочкой мозга, формируя краевую глию. В цитоплазме волокнистых астроцитов органоидов мало, за исключением пучков промежуточных филаментов в отростках. Митохондрии этих клеток часто имеют неправильную форму.

Как плазматические, так и волокнистые астроциты выполняют опорную и разграничительную функции, изолируя тела и отростки нейронов от внешних воздействий. Астроциты также формируют гематоэнцефалический барьер – физиологический фильтр со специфической проницаемостью, который на уровне сосудистого русла отделяет нервную систему от остального организма.

Эпендимная глия образует выстилку желудочков мозга и центрального канала головного и спинного мозга. Эпендимоциты представляют собой клетки кубической формы с ресничками на апикальной поверхности и отростком на базальном конце. Ядра в клетках смещены к базальному концу, а гранулярная плазматическая сеть – к апикальному концу. Отростки эпендимоцитов могут иметь различную степень ветвления и длину, некоторые из них проходят через весь мозг, соединяясь с отростками других глиальных клеток. Эпендимоциты секретируют компоненты цереброспинальной жидкости и биением ресничек содействуют ее току.

Олигодендроциты (малоотростчатая глия) имеют небольшие размеры и незначительное число коротких отростков. Этих клеток много как в сером, так и в

белом веществе. К ним, в частности, относятся глиоциты-сателлиты, которые локализованы на поверхности перикариона нейрона, и леммоциты (шванновские клетки), формирующие оболочки нервных волокон Олигодендроциты, которые в белом веществе располагаются между нервными волокнами, называются интерфасцикулярными клетками.

Олигодендроциты участвуют также в формировании нервных рецепторов. Это тип нейроглии отличается выраженной способностью к набуханию, что лежит в основе патогенеза мозгового отека. Функции олигодендроцитов заключаются в обеспечении питания нейронов, их изоляции и гомеостатировании нервной системы.

Астроцитам, эпендимоцитам и олигодендроцитам макроглии противопоставляется микроглия. В отличие от макроглии клетки микроглии способны к активному движению и фагоцитозу. Они имеют небольшие размеры и тонкие неветвящиеся отростки, с помощью которых прикрепляются к сосудам. Клетки микроглии выполняют защитные и репаративные функции. В частности, они способны фагоцитировать бактерии, а также погибшие нейроны и поврежденные участки нервных волокон. Ранее предполагалось мезенхимное происхождение микроглии, и ее клетки рассматривались как специализированные макрофаги нервной ткани. В настоящее время более вероятным считается нейрогенное происхождение микроглии.

### **1.12.2. Нервные волокна**

Нервные волокна – это отростки нейронов, окруженные глиальной оболочкой, которые обеспечивают проведение нервных импульсов. Отросток нейрона в составе нервного волокна носит название осевого цилиндра. Оболочка волокна образована леммоцитами (шванновскими клетками). Нервные волокна формируют в центральной нервной системе белое вещество мозга. На периферии группы нервных волокон с участием соединительной ткани объединяются в нервы. При этом нервные волокна покрываются эндоневрием, который состоит из базальной пластинки, единичных фибробластов и пучков коллагеновых волокон. Нервные волокна формируют проводящие пути нервной системы, обеспечивая передачу нервных импульсов от центра к периферии и обратно. Толщина соматических волокон составляет 12–14 мкм, а вегетативных – 5–7 мкм.

При объединении нейронов с помощью нервных волокон образуются рефлекторные дуги. Простейшая рефлекторная дуга состоит из двух нейронов. Один из них – центростремительный, или афферентный – принимает раздражение от окончания дендрита и передает его на другой нейрон – центробежный, или эфферентный. Последний передает нервный импульс по аксону на эффекторный орган, например, на поперечно-полосатую мышцу. Так устроена рефлекторная дуга, которая осуществляет коленный рефлекс. Тела афферентных нейронов рефлекторной дуги коленного рефлекса расположены в спинальных ганглиях, а тела эфферентных нейронов – в передних рогах спинного мозга. В большинстве случаев, однако, рефлекторные дуги имеют в своем составе третий, вставочный (интеркалярный) нейрон, который располагается между афферентным и эфферентным нейронами. Он связывает рефлекторную дугу с другими отделами нервной системы, которые могут с его помощью задерживать проходящий по рефлекторной дуге импульс.

Различают два типа нервных волокон – мякотные (миелиновые) и безмякотные. Безмякотные нервные волокна обнаруживаются в основном в составе вегетативной системы. Они имеют несколько (3 и более) осевых цилиндров, которые окружены цепочкой леммоцитов. Каждый осевой цилиндр как бы подвешен на мезаксоне – складке, образованной смыкающимися участками плазмолеммы глиальной клетки. Леммоциты покрывают осевые цилиндры на всем их протяжении за исключением нервных окончаний. Они обеспечивают изоляцию отростков нейронов от окружающей среды, способствуя проведению нервного импульса на значительное расстояние. Скорость проведения нервного импульса по безмякотным нервным волокнам составляет около 1 м/сек.

Мякотные (миелиновые) нервные волокна обнаружены в составе как центральной, так и периферической системы. Они имеют только один осевой цилиндр, представляющий собой аксон или дендрит, погруженный в цепочку леммоцитов. Осевой цилиндр окружен мякотной, или миелиновой оболочкой. В электронном микроскопе видно, что миелиновая оболочка состоит из слоев – плотно прилегающих друг к другу участков плазмолеммы глиальной клетки толщиной 12 нм. Химический состав мембран миелиновой оболочки отличается высоким содержанием липидов, в особенности холестерина и цереброзидов. Между миелиновой оболочкой и наружным участком плазмолеммы леммоцита имеется тонкий слой цитоплазмы – шванновская оболочка. У мякотного волокна один мезаксон.

Леммоциты покрывают осевой цилиндр нервного волокна по всей его длине, тогда как миелиновая оболочка регулярно прерывается. Участки, где миелиновая оболочка отсутствует, несколько тоньше всего волокна, здесь проходит граница между двумя соседними леммоцитами. Эти участки называются кольцевыми перехватами, или перехватами Ранвье.

В районе кольцевого перехвата внутри нервного волокна обнаруживаются косые тонкие полосы. Эти структуры обозначаются как насечки неврилеммы (насечки Лантермана). Они представляют собой складки плазмолеммы глиальной клетки на краю миелиновой оболочки. В этом участке оболочки ее соседние слои переходят друг в друга. В белом веществе мякотные волокна не имеют насечек неврилеммы из-за того, что вместо леммоцитов оболочку мякотного волокна формируют отличающиеся от них олигодендроциты мозга.

Скорость проведения нервного импульса по мякотным волокнам достигает 100 м/сек и более.

### **1.12.3. Синапсы**

Синапсы являются специализированными межклеточными контактами, которые характерны только для нервной системы. Различают химические и электрические синапсы. Химический синапс состоит из пресинаптической мембраны, синаптической щели и постсинаптической мембраны. Пресинаптическая мембрана представляет собой участок плазмолеммы аксона на его конце, который контактирует с отростком или перикарионом другого нейрона. Концевое расширение аксона содержит митохондрии, микротрубочки и промежуточные филаменты, а также большое количество синаптических

пузырьков диаметром 40–90 нм. Эти пузырьки заполнены нейромедиатором – низкомолекулярным органическим веществом, которое синтезируется в перикарионе или в концевом расширении аксона. Постсинаптическая мембрана образована плазмолеммой второго нейрона. Она содержит встроенные в мембрану молекулы белка – рецептора нейромедиатора. Синаптическая щель представляет собой замкнутое пространство между пресинаптической и постсинаптической мембранами.

Приходящий по аксону нейрона-передатчика к синапсу нервный импульс вызывает слияние синаптических пузырьков с пресинаптической мембраной и выделение нейромедиатора в синаптическую щель. Далее молекулы нейромедиатора связываются рецепторами постсинаптической мембраны, что инициирует поступление в клетку ионов натрия, деполяризацию постсинаптической мембраны и возбуждение нейрона-приемника. Если при связывании нейромедиатора усиливается поступление в клетку ионов хлора, наблюдается гиперполяризация постсинаптической мембраны и торможение нейрона-приемника. Для восстановления способности синапса к повторной передаче содержащийся в них медиатор подвергается ферментативному разрушению. Способность нейронов управлять передачей импульса через синапс путем задержки его с помощью других синапсов является основополагающим принципом обработки информации в нервной системе.

Каждый нейрон вырабатывает свой специфический нейромедиатор. Поэтому нейроны (и соответствующие им синапсы) классифицируют в зависимости от химической природы секретируемого медиатора. В нервной системе наиболее распространены холинэргические и адренэргические нейроны с ацетилхолином и норадреналином в качестве медиаторов. Довольно часто встречаются также пептидэргические нейроны, в которых медиаторами служат различные пептиды, пуринэргические нейроны с АТФ и ее производными и ГАМК-эргические нейроны, в которых медиатором является  $\gamma$ -аминомасляная кислота. В отличие от других ГАМК-эргические нейроны и синапсы обычно вызывают торможение.

Наиболее полно изучены холинэргические нейроны, к которым относятся среди прочих мотонейроны спинного мозга. Ацетилхолин в этих нейронах сконцентрирован в синаптических пузырьках диаметром 40 нм. При возбуждении мотонейрона ацетилхолин секретируется в синаптическую щель, где связывается рецепторами постсинаптической мембраны, принадлежащей другим нейронам, мышечным волокнам или гладкомышечным клеткам.

Межнейрональные синапсы классифицируются также на основе морфологических критериев. Согласно этой классификации выделяют:

- аксо-соматические синапсы, которые связывают аксон одного нейрона с перикарионом другого;
- аксо-дендритические синапсы, связывающие аксон и дендрит;
- аксо-аксональные синапсы, соединяющие аксоны двух нейронов;
- сомато-соматические синапсы, которые связывают перикарионы двух нейронов;
- дендро-дендритические синапсы, связывающие дендриты двух нейронов;

- дендро-соматические синапсы, соединяющие дендрит и перикарион.

Электрические синапсы встречаются значительно реже, чем химические. Они отличаются почти полным слиянием мембран контактирующих клеток. Передача нервного импульса в электрических нейронах происходит путем перехода волны деполяризации с одной мембраны на другую без участия нейромедиатора. Этот тип синапсов обнаружен в спинном мозге лягушки, в электрических органах рыб и у ракообразных. Электрические синапсы не способны обрабатывать информацию так, как химические синапсы.

#### **1.12.4. Нервные окончания**

Нервные окончания бывают двух типов – чувствительные (рецепторные) и двигательные (эффektorные). Рецепторные окончания представляют собой концевые аппараты дендритов афферентных нейронов, тела которых располагаются в спинальных, вегетативных и черепно-мозговых ганглиях. Их подразделяют на интерорецепторы, которые воспринимают информацию от внутренних органов, и экстерорецепторы, получающие информацию из внешней среды. В зависимости от природы сигнала различают воспринимающие прикосновение тактильные рецепторы, холодовые и тепловые рецепторы, чувствительные к давлению барорецепторы, воспринимающие химические вещества хеморецепторы и т. п.

Морфологически нервные рецепторы подразделяют на свободные и несвободные. Свободные рецепторы – это окончания дендритов, которые располагаются между клетками какого-либо органа. Они обладают низкой специфичностью восприятия физических и химических сигналов. Несвободные рецепторы представляют собой отдельный орган, состоящий из дендрита и других клеток. Их разделяют далее на неинкапсулированные и инкапсулированные рецепторы.

Примером неинкапсулированного рецептора могут служить клетки Меркеля (осязательные мениски). Они обеспечивают тактильную чувствительность и широко представлены в покровном эпителии позвоночных животных. Клетки Меркеля овальной формы, с гантелевидным ядром, содержат в цитоплазме осмиофильные гранулы диаметром 70–180 нм. Концевые терминалы афферентных волокон образуют на этих клетках многочисленные контакты наподобие синапсов.

Инкапсулированные рецепторы давления – тельца Фатера-Пачини (пластинчатые тельца) располагаются в глубоких слоях кожи и во внутренних органах. Они имеют диаметр от 0,5 до 2,0 мм и состоят из наружной соединительнотканной капсулы и внутренней глиальной «колбы». Капсула состоит из концентрических слоев уплотненных клеток и коллагеновых волокон. Афферентное волокно входит внутрь под капсулу и образует контакты с глиальными клетками колбы. Между капсулой и колбой содержится интерстициальная жидкость, которая способствует передаче давления на нервное окончание.

Эффektorные окончания, или нейроорганные синапсы имеются во всех разновидностях тканей, обеспечивая передачу управляющего сигнала от нервной системы на орган. Среди них наиболее полно изучены нервно-мышечные

синапсы, или моторные бляшки. Они образованы аксонами мотонейронов передних рогов спинного мозга и эфферентных нейронов вегетативной системы.

Моторные бляшки выглядят как небольшие пуговицы на поверхности гладкомышечных клеток и мионов, к которым подходят лишенные миелиновой оболочки разветвления нервных волокон. Последние проникают под базальную пластинку и вдавливаются в плазмолемму миона, формируя межклеточные контакты наподобие синапсов. При этом плазмолемма аксона играет роль пресинаптической мембраны, а плазмолемма мышечного волокна или гладкомышечной клетки – постсинаптической мембраны. В отличие от типичного синапса постсинаптическая мембрана в моторной бляшке собрана в многочисленные складки – субневральный аппарат. В концевых участках веточек аксона содержится большое число митохондрий и синаптических пузырьков с ацетилхолином. Приходящий по аксону нервный импульс вызывает секрецию ацетилхолина в синаптическую щель и связывание его рецепторами сарколеммы. Возникающая при этом волна деполяризации распространяется по каналам T-системы к цистернам L-системы, обеспечивая выход кальция в гиалоплазму и сокращение миофибрилл. Секретированный ацетилхолин разрушается особым ферментом – холинэстеразой, что восстанавливает способность моторной бляшки к повторной передаче импульса. В некоторых органах (желудке, сердце, кишечнике) моторные бляшки обеспечивают гиперполяризацию сарколеммы миона, задерживая нервные импульсы и расслабляя мышцы. Таким образом, моторные бляшки и другие эффекторные окончания (как, например, на железистых клетках) представляют собой видоизменения химических синапсов.

## 2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

Лабораторные занятия по курсу «Цитология и гистология» проводятся в объеме 30 учебных часов по всем ключевым темам, перечисленным в методических указаниях. В задачи лабораторного практикума входит закрепление теоретических знаний, полученных на лекциях, изучение устройства и усвоение правил работы с микроскопом, исследование и зарисовка цитологических и гистологических микропрепаратов, а также приобретения навыков их самостоятельного изготовления.

### ЗАНЯТИЕ № 1: МИКРОСКОПИЯ. КЛЕТОЧНАЯ ТЕОРИЯ

Изучению подлежат два цитологических микропрепарата:

1. Клетки крови лягушки.
2. Пигментные клетки кожи головастика.

### ЗАНЯТИЕ № 2: ОДНОМЕМБРАННЫЕ КОМПОНЕНТЫ КЛЕТОК. ВКЛЮЧЕНИЯ

Изучению подлежат четыре цитологических микропрепарата:

1. Аппарат Гольджи в нейронах спинального ганглия кошки.
2. Гранулы зимогена в клетках поджелудочной железы крысы.
3. Гликоген в клетках печени аксолотля.
4. Жировые включения в клетках печени аксолотля.

### ЗАНЯТИЕ № 3: ДВУМЕМБРАННЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ КЛЕТКИ

Изучению подлежат три цитологических микропрепарата, а также приготовление одного временного микропрепарата:

1. Митохондрии в эпителиальных клетках кишечника аскариды.
2. Митохондрии в клетках печени аксолотля.
3. Митохондрии в клетках канальцев почки.

**Приготовление временных препаратов срезов мезофилла листа сансевьеры (*Sansevierie trifasciata*):**

1. сделайте тонкий срез с верхней стороны листа параллельно поверхности листовой пластинки;
2. поместите срез на предметное стекло в каплю дистиллированной воды;
3. накройте срез покровным стеклом;
4. зарисуйте клетку мезофилла листа с хлоропластами на большом увеличении ( $\times 400$ ).

## **ЗАНЯТИЕ № 4: НЕМЕМБРАННЫЕ КОМПОНЕНТЫ КЛЕТКИ**

Изучению подлежат четыре цитологических микропрепарата:

1. Центросома и веретено деления в дробящихся зиготах лошадиной аскариды.
2. Реснички эпителиальных клеток мантии беззубки.
3. Микроворсинки эпителиальных клеток тонкой кишки.
4. Миофибриллы поперечно-полосатой мускулатуры языка кролика

## **ЗАНЯТИЕ № 5: КЛЕТОЧНОЕ ЯДРО**

На занятии готовиться временный микропрепарат политенных хромосом.

**Приготовление препаратов политенных хромосом личинки комара *Chironomus sp.***

1. промыть личинку мотыля водой и обсушить фильтровальной бумагой;
2. с помощью пинцета выложить личинку на предметное стекло, придерживая личинку одной иглой за середину тела, второй отделить головную капсулу, при этом вместе с головой выделяются парные слюнные железы в капле гемолимфы;
3. фиксировать слюнные железы в капле 45 %-ной уксусной кислоты в трех сменах фиксатора по 1-2 минуты в каждом;
4. окрасить слюнные железы в капле ацетоорсеина в темно-красный цвет; процесс можно ускорить, если нагревать препарат над пламенем спиртовки, не допуская вскипания красителя и высыхания препарата в течение 3-4 минут;
5. дифференцировать окраску, промыв слюнные железы 45 %-ным раствором уксусной кислоты, излишки кислоты удалить фильтровальной бумагой;
6. на готовый препарат нанести каплю 45 %-ного раствора уксусной кислоты и накрыть покровным стеклом, аккуратно надавить на покровное стекло чистым концом спички без бокового смещения, добиваясь полного и равномерного распределения клеток;
7. найти в клетках слюнных желез политенные хромосомы и зарисовать их, указав на рисунке диски, междисковые пространства и пuffed.

## **ЗАНЯТИЕ № 6: КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ, МИТОЗ И АПОПТОЗ**

Изучению подлежат один цитологический микропрепарат, а также приготовление одного временного микропрепарата:

1. Митоз растительной клетки (меристема корешков проростков лука).

**Приготовление давленных препаратов клеток меристемы корешка лука:**

1. зафиксированный в фиксаторе Кларка (3:1) корешок лука пинцетом выложить на предметное стекло, отрезать кончик (5 мм) корешка с помощью лезвия;
2. промыть материал 45 %-ной уксусной кислотой 3 раза;
3. окрашивать ацеторсеином над пламенем спиртовки до тех пор, пока корешок не приобретет однородный темно-красный цвет;

4. окрашенный материал отмыть от избытка красителя 45 %-ной уксусной кислотой;

5. на препарат нанести каплю 45 %-ной уксусной кислоты, накрыть покровным стеклом и раздавить с помощью спички таким образом, чтобы клетки легли в один слой;

6. найти все фазы митоза и зарисовать их.

### **ЗАНЯТИЕ № 7: МЕЙОЗ**

Изучению подлежат один цитологический микропрепарат:

1. Мейоз в растительных клетках (микроспорогенез).

### **ЗАНЯТИЕ № 8: ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ ТКАНИ**

Изучению подлежат шесть гистологических микропрепаратов:

1. Мезотелий сальника кролика.
2. Однослойный призматический эпителий тонкого кишечника.
3. Однослойный призматический эпителий толстого кишечника.
4. Переход пищевода в желудок.
5. Многослойный ороговевающий эпителий кожи пальца.
6. Переходный эпителий мочевого пузыря.

### **ЗАНЯТИЕ № 9: ЖЕЛЕЗИСТЫЙ ЭПИТЕЛИЙ**

Изучению подлежат три гистологических микропрепарата:

1. Молочная железа коровы.
2. Поджелудочная железа.
3. Щитовидная железа.

### **ЗАНЯТИЕ № 10: СОЕДИНИТЕЛЬНЫЕ ТКАНИ**

Изучению подлежат пять гистологических микропрепаратов:

1. Рыхлая соединительная ткань подкожной клетчатки крысы.
2. Плотная неоформленная соединительная ткань сетчатого слоя дермы кожи пальца человека.
3. Плотная оформленная соединительная ткань сухожилия телят в продольном разрезе.
4. Плотная оформленная соединительная ткань эластической связки быка.
5. Мезенхима зародыша курицы.

### **ЗАНЯТИЕ № 11: ХРЯЦЕВЫЕ И КОСТНЫЕ ТКАНИ**

Изучению подлежат шесть гистологических микропрепаратов:

1. Гиалиновый хрящ ребра кролика.
2. Эластический хрящ ушной раковины свиньи.

3. Волокнистый хрящ межпозвоночного диска теленка.
4. Пластинчатая костная ткань. Кость в поперечном разрезе.
5. Развитие кости из соединительной ткани. Нижняя челюсть зародыша свиньи.
6. Развитие кости на месте гиалинового хряща. Продольный разрез фаланги пальца зародыша свиньи.

### **ЗАНЯТИЕ № 12: КРОВЬ И ЛИМФА**

Изучению подлежат три гистологических микропрепарата:

1. Кровь человека.
2. Селезенка крысы.
3. Зобная железа собаки.

### **ЗАНЯТИЕ № 13: МЫШЕЧНЫЕ ТКАНИ**

Изучению подлежат три гистологических микропрепарата:

1. Поперечно-полосатая скелетная мышечная ткань языка кролика.
2. Поперечно-полосатая сердечная мышечная ткань. Миокард сердца лошади.
3. Гладкая мышечная ткань мочевого пузыря.

### **ЗАНЯТИЕ № 14: НЕРВНАЯ ТКАНЬ**

Изучению подлежат пять гистологических микропрепаратов:

1. Псевдоуниполярные нейроны в спинальном ганглии котенка.
2. Тигроид в цитоплазме мультиполярных нейронов спинного мозга собаки.
3. Нейрофибриллы в цитоплазме мультиполярных нейронов спинного мозга собаки.
4. Безмякотные нервные волокна.
5. Мякотные нервные волокна седалищного нерва.

### **ЗАНЯТИЕ № 15: ПОДГОТОВКА К ДИАГНОСТИКЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**

Завершающее лабораторное занятие играет вспомогательную роль – во время этого занятия студенты повторно просматривают те гистологические микропрепараты, которые они изучали в рамках гистологических тем, и готовятся к зачетному занятию по диагностике.

### 3. РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

#### 3.1. Структура рейтинговой системы

Структура рейтинговой системы приведена в учебной программе по учебной дисциплине «Цитология и гистология».

Учебная программа УВО по учебной дисциплине «Цитология и гистология» для учреждений высшего образования по специальностям 1-31 01 02 Биохимия и 1-31 01 03 Микробиология: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/210060>. – Дата доступа: 24.03.2022.

Учебная программа УВО по учебной дисциплине «Цитология и гистология» для учреждений высшего образования по специальностям 1-31 01 01 Биология (по направлениям) и 1-33 01 01 Биоэкология: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/274348>. – Дата доступа: 24.03.2022.

#### 3.2. Задания для управляемой самостоятельной работы студентов

##### **Задание 1.** Структурная организация клетки.

Студенты, используя рекомендованную литературу, самостоятельно изучают устройство и принцип работы светового, флуоресцентного, электронного и других видов микроскопов, а также технологии подготовки клеток и тканей, предназначенных для микроскопических исследований. Кроме того, студенты изучают структурную организацию, свойства и функциональные возможности клеточных мембран, одно-, двух- и немембранных органелл клетки, а также рибосом и связанный с ними биосинтез белка. Глубина и системность понимания студентами изученных вопросов проверяется с помощью комплексного теста, который включает как открытые, так и закрытые вопросы.

**Форма контроля:** компьютерное тестирование на образовательном портале.

##### **Задание 2.** Функциональная организация клетки.

Студенты изучают клетку как единую функциональную систему. Сюда входят вопросы организации клеточного ядра как хранилища наследственной информации, обеспечивающего ее реализацию и наследование. Кроме того, студенты изучают механизмы воспроизводства клеток через митоз и мейоз, а также их гибель путем апоптоза или некроза.

**Форма контроля:** комплексная письменная работа «Функциональная организация клетки».

##### **Задание 3.** Эпителиальные ткани.

Студенты, используя рекомендованную литературу, самостоятельно изучают разнообразие покровных эпителиев, их общие свойства, а также функциональные возможности. Наравне с этим студенты изучают железистый эпителий и организацию желез внешней и внутренней секреции. Глубина и системность понимания студентами изученных вопросов проверяется с помощью комплексного теста, который включает как открытые, так и закрытые вопросы.

**Форма контроля:** компьютерное тестирование на образовательном портале.

#### **Задание 4.** Диагностика гистологических препаратов.

Перед студентами стоит конечная цель – правильно диагностировать серию гистологических микропрепаратов. Список микропрепаратов включает эпителиальные ткани, ткани внутренней среды организма, мышечные ткани и нервную ткань. Кроме того, студенты должны уметь дать правильное диагностическое описание полученных микропрепаратов, вычленив диагностические признаки всех тканей и гистологических элементов этих тканей на препаратах.

**Форма контроля:** комплексная письменная работа «Диагностика гистологических препаратов».

### **3.3. Тематика рефератов и эссе**

- 1) История создания светового микроскопа.
- 2) Возможности электронной микроскопии.
- 3) Флуоресцентная микроскопия.
- 4) Строение и функциональное значение межклеточных контактов.
- 5) Современные представления о способах гибели клеток. Причины и механизмы.
- 6) Кооперация клеточных структур на примере метаболизма белков.
- 7) Современные представления о мембранной системе клетки.
- 8) Молекулярные основы клеточной рецепции.
- 9) Виды и механизмы белок-опосредованного трансмембранного клеточного транспорта.
- 10) Роль лизосом в различных клетках.
- 11) Аппарат энергообеспечения клетки.
- 12) Ядро как центр управления жизнедеятельностью клетки, сохранения и передачи наследственной информации.
- 13) Биосинтез белка.
- 14) Регуляция клеточного цикла.
- 15) Ткань, как система клеток и их производных.
- 16) Интеграция и взаимодействие клеток.
- 17) Стволовые клетки. Происхождение, характеристика. Факторы, регулирующие развитие и функционирование стволовой клетки.
- 18) Механизмы дифференцировки клеток.
- 19) Кишечный эпителий, его строение и функциональные особенности, участие в пристеночном, мембранном и внутриклеточном пищеварении.
- 20) Строение и функционирование эпидермиса кожи.
- 21) Гистологическая характеристика железистого эпителия.
- 22) Структура и биосинтез коллагенового и эластического волокон соединительных тканей.
- 23) Регуляция гемопоеза.
- 24) Морфологические фазы и процессы воспаления. Клеточные основы воспалительной реакции.
- 25) Взаимоотношения клеток крови и рыхлой волокнистой соединительной

ткани в иммунных реакциях организма.

26) Развитие, строение и функциональные свойства Т- и В-лимфоцитов, ЕК-клеток.

27) Морфология мышечного волокна.

28) Проводящая система сердца.

29) Особенности строения и функционирования рецепторных нервных окончаний.

30) Морфофункциональная характеристика макроглии и микроглии нервной ткани. Участие клеток нейроглии в регенерации нервной ткани.

### **3.4. Вопросы для подготовки к экзамену**

1) Предмет, цели и задачи цитологии, ее место в системе биологических наук. Краткая история развития цитологии.

2) Клеточная теория Т. Шванна и Р. Вирхова. Основные положения клеточной теории. Влияние клеточной теории на развитие цитологии и гистологии.

3) Фиксация и окраска клеток и тканей, предназначенных для микроскопических исследований.

4) Устройство и принцип работы светового микроскопа. Разрешающая способность и увеличение светового микроскопа.

5) Специальные методы световой микроскопии: темнопольная, фазово-контрастная, поляризационная, интерференционная, люминесцентная и флуоресцентная микроскопия.

6) Иммунологические методы в цитологии и гистологии. Базовый принцип, способы детекции иммунных комплексов, решаемые задачи.

7) Устройство и принцип работы электронного микроскопа. Разрешающая способность и увеличение электронного микроскопа. Особенности подготовки биологического материала для электронной микроскопии.

8) Компонентный состав биологических мембран. Мозаичная и сэндвич-модели организации биологических мембран. Свойства биологических мембран.

9) Особенности строения плазматической мембраны растительных и животных клеток. Функции плазматической мембраны.

10) Структура и функции гладкой и шероховатой эндоплазматической сети.

11) Структура и функции аппарата Гольджи.

12) Химический состав, структурные особенности и функции лизосом. Лизосомальный цикл.

13) Химический состав, структурные особенности и функции пероксисом.

14) Химический состав, ультраструктура и функции митохондрий. Размножение митохондрий. Происхождение митохондрий.

15) Химический состав, ультраструктура и функции пластид. Происхождение, размножение и развитие пластид.

16) Особенности организации растительной клетки. Клеточная стенка, вакуоли, глиоксисомы и сферосомы растительной клетки.

17) Образование и круговорот мембран в клетке.

18) Химический состав, строение и функции рибосом. Компоненты белоксинтезирующей системы. Этапы биосинтеза белка. Стадии элонгации полипептидной цепи.

19) Химический состав и структура микрофиламентозного компонента цитоскелета. Специализированные органеллы клетки на основе микрофиламентов.

20) Промежуточные филаменты: особенности молекулярной структуры, классификация и роль в цитоплазме и ядре.

21) Микротубулярный компонент цитоскелета и специализированные органеллы на его основе.

22) Химический состав и ультраструктура клеточного ядра. Особенности строения нуклеолеммы, внутриядерного белкового матрикса, хроматина и ядрышка, состав нуклеоплазмы. Уровни структурной организации хроматина.

23) Морфология хромосом. Классификация хромосом. Кариотип и идиограмма. Цитогенетика. Кариотипирование и его значение в фундаментальных и прикладных исследованиях.

24) Пролиферация и клеточный цикл. Методы изучения пролиферации клеток. Генетический контроль клеточного цикла.

25) Митоз. Биологическое значение митоза. Морфология и биохимия апоптоза и некроза.

26) Мейоз. Конъюгация хромосом и кроссинговер. Биологическое значение мейоза.

27) Закономерности дифференцировки клеток. Стволовые клетки. Понятие дифферон.

28) Предмет, цели и задачи гистологии, ее место в системе биологических наук. Ткани, их разнообразие и классификация.

29) Топография зародышевых листков в курином эмбрионе и их производные.

30) Общая характеристика, морфофункциональная и гистогенетическая классификации эпителиальных тканей.

31) Морфофункциональная характеристика эпителия слизистых оболочек тонкого и толстого кишечника.

32) Морфофункциональная характеристика многослойных эпителиев.

33) Закономерности организации железистого эпителия. Разнообразие и классификация желез.

34) Особенности строения желез внешней секреции. Морфология и функции молочной железы. Особенности организации экзокринной части поджелудочной железы.

35) Особенности строения желез внутренней секреции. Морфология и функции щитовидной железы. Особенности организации эндокринной части поджелудочной железы.

36) Общая характеристика и классификация тканей внутренней среды.

37) Клеточный состав рыхлой соединительной ткани. Химический состав и структура волокнистого компонента и аморфного вещества рыхлой соединительной ткани.

38) Особенности строения и функции плотной соединительной ткани

(сетчатый слой дермы, фасции, сухожилия, связки).

39) Морфофункциональная характеристика соединительных тканей со специальными свойствами.

40) Морфофизиологическая характеристика хрящевых тканей. Гистогенез хрящевых тканей.

41) Клеточный состав и характеристика межклеточного вещества костной ткани. Типы костной ткани. Микроанатомическая структура трубчатой кости.

42) Прямой и непрямой гистогенез костной ткани.

43) Классификация клеток периферической крови и их функции. Гемограмма здорового человека и ее изменения при стрессе, остром и хроническом воспалительном процессе.

44) Закономерности гемопоэза (эритропоэз, моноцитопоэз, гранулоцитопоэз и тромбоцитопоэз).

45) Клеточный состав и роль в организме лимфоидной ткани. Строение лимфоидного фолликула селезенки. Закономерности дифференцировки и функции В-лимфоцитов.

46) Морфология тимуса (вилочковой железы). Закономерности дифференцировки и функции Т-лимфоцитов.

47) Морфофункциональная и гистогенетическая классификации мышечных тканей. Морфология скелетной мышечной ткани. Ультраструктура мышечного волокна. Гистогенез и регенерация скелетной мускулатуры.

48) Особенности строения сердечной мышечной ткани. Кардиомиоциты. Проводящая система сердца. Гистогенез и регенерация миокарда.

49) Локализация в организме и строение гладкой мышечной ткани. Гладкомышечная клетка и ее сократительные структуры. Гистогенез и регенерация гладкой мышечной ткани.

50) Гистологическая характеристика нервной ткани, классификация образующих ее клеток. Особенности строения и функции нейронов и глиальных клеток.

51) Строение безмякотных и мякотных нервных волокон. Механизм образования оболочек нервных волокон.

52) Межнейрональные синапсы и их классификация. Ультраструктура химического синапса. Медиаторы. Механизм синаптической передачи.

53) Строение двигательных нервных окончаний на примере моторной бляшки. Механизм передачи нервного импульса при сокращении миона.

54) Классификация и строение чувствительных нервных окончаний (нервно-мышечное веретено, клетка Меркеля, тельце Фатера-Пачини).

## 4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

### 4.1. Учебно-программные материалы

Учебная программа УВО по учебной дисциплине «Цитология и гистология» для учреждений высшего образования по специальностям 1-31 01 02 Биохимия и 1-31 01 03 Микробиология: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/210060>. – Дата доступа: 24.03.2022.

Учебная программа УВО по учебной дисциплине «Цитология и гистология» для учреждений высшего образования по специальностям 1-31 01 01 Биология (по направлениям) и 1-33 01 01 Биоэкология: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/274348>. – Дата доступа: 24.03.2022.

### 4.2. Список рекомендуемой литературы

#### Основная литература

1. *Афанасьев Ю. И.* Гистология, эмбриология, цитология: учебник / Под ред. Ю. И. Афанасьева, Н. А. Юриной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021.

2. *Глушен С. В.* Атлас по цитологии и гистологии: учебно-методическое пособие. / С. В. Глушен, М. П. Куницкая, В. В. Гринев и др. Мн.: Изд. Центр БГУ, 2019.

3. *Глушен С. В.* Цитология и гистология: учебное пособие / С. В. Глушен. Мн.: Изд. центр БГУ, 2017.

4. *Данилов Р. К.* Гистология, эмбриология, цитология: учебник / Р. К. Данилов, Т. Г. Боровая. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020.

5. *Студеникина Т. М.* Гистология, цитология и эмбриология: учебник / Под ред. Т. М. Студеникиной. Мн.: Новое знание, 2020.

#### Дополнительная литература

6. *Альбертс Б.* Молекулярная биология клетки / Б. Альбертс, Д. Брэй, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Робертс. М.: Мир, 1993. Т. 1-3.

7. *Быков В. Л.* Цитология и общая гистология (функциональная морфология клеток и тканей организма) / В. Л. Быков. СПб.: СОТИС, 2000.

8. *Волкова О. В.* Гистология, цитология и эмбриология. Атлас / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий, Т. К. Дубовая и др. М.: Медицина, 1996.

9. *Глушен С. В.* Методические указания к лабораторным занятиям по курсу «Цитология и гистология» / С. В. Глушен, В. В. Гринев, М. П. Куницкая. Мн.: БГУ, 2017 г.

10. *Данилов Р. К.* Гистология человека в мультимедиа / Р. К. Данилов, А.А. Клишов, Т. Г. Боровая. СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2004.

11. *Заварзин А. А.* Сравнительная гистология / А. А. Заварзин. СПб.: Изд-во С-Петербур. ун-та, 2000.

12. *Сидоров А. В.* Основы нейробиологии. Клетки и контакты нервной ткани: учеб. пособие / А. В. Сидоров. Минск: БГУ, 2019.

13. *Уилсон Д.* Молекулярная биология клетки. Сборник задач / Д. Уилсон, Т. Хант. М.: Мир, 1994.

14. Улумбеков Э. Г. Гистология / Э. Г. Улумбеков, Ю. А. Челышев. М.: Геотар Медицина, 2001.
15. Фаллер Д. М. Молекулярная биология клетки / Д. М. Фаллер, Д. Шилдс. М.: БИНОМ-Пресс, 2003.
16. Ченцов Ю. С. Введение в клеточную биологию / Ю. С. Ченцов. М.: Академкнига, 2004.
17. *Alberts B.* Molecular Biology of the Cell. Fifth Edition / B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, D. Morgan, M. Raff, K. Roberts, P. Walter. New York: Garland Science, 2008.
18. *Lodish H.* Molecular Cell Biology. Ninth Edition / H. Lodish, A. Berk, C. A. Kaiser, M. Krieger, A. Bretscher, H. Ploegh, K. C. Martin, M. Yaffe, A. Amon. New York: Macmillan Learning, 2021.
19. *Plopper G.* Principles of Cell Biology. Third Edition / G. Plopper, D. B. Ivankovic. Burlington: Jones & Bartlett Learning, 2021.

### 4.3. Электронные ресурсы

1. Гринев В. В. Авторские видеолекции на образовательном YouTube-канале Grinev's Educational Channel [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.youtube.com/channel/UCYQ8QwQAX8ubVYYuegxNTYQ>. – Дата доступа: 31.01.2022.
2. Образовательный портал БГУ. Курс «Цитология и гистология» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://edubio.bsu.by/course/view.php?id=20>. – Дата доступа: 31.01.2022.
3. Сообщество ВКонтакте «Cell Biology» (модератор Гринев В. В.) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://vk.com/cell\\_biology](https://vk.com/cell_biology). – Дата доступа: 31.01.2022.
4. Электронная библиотека БГУ. Коллекция «Цитология и гистология» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://elib.bsu.by/handle/123456789/258473>. – Дата доступа: 31.01.2022.