

---

# Robbins

# BASIC PATHOLOGY

TENTH EDITION

**Vinay Kumar, MBBS, MD, FRCPath**

**Alice Hogge and Arthur A. Baer Distinguished Service  
Professor of Pathology Biological Sciences Division  
and The Pritzker Medical School**

**University of Chicago  
Chicago, Illinois**

**Abul K. Abbas, MBBS**

**Distinguished Professor and Chair  
Department of Pathology**

**University of California, San Francisco  
San Francisco, California**

**Jon C. Aster, MD, PhD**

**Professor of Pathology  
Brigham and Women's Hospital  
and Harvard Medical School**

**Boston, Massachusetts**

**ARTIST James A. Perkins, MS, MFA**

ELSEVIER

# Оглавление

Предисловие к изданию на русском языке	6
Предисловие к изданию на английском языке	7
Благодарности	8
Авторский коллектив	9
Клинические консультанты	10
Список сокращений и условных обозначений	11
ГЛАВА 1. Клетка как основа здоровья и болезни	13
ГЛАВА 2. Повреждение клетки, смерть клетки и адаптация	49
ГЛАВА 3. Воспаление и репарация	81
ГЛАВА 4. Нарушения кровообращения, тромбоз и шок	131
ГЛАВА 5. Болезни иммунной системы	161
ГЛАВА 6. Опухоли	245
ГЛАВА 7. Генетические и детские заболевания	313
ГЛАВА 8. Болезни, вызванные неблагоприятными факторами окружающей среды и нарушением питания	379
ГЛАВА 9. Патология инфекционных болезней, общие сведения	431
ГЛАВА 10. Кровеносные сосуды	457
ГЛАВА 11. Сердце	505
ГЛАВА 12. Гемопозитическая и лимфоидная системы	559
ГЛАВА 13. Легкие	625
ГЛАВА 14. Почки и мочевыводящие пути	689
ГЛАВА 15. Полость рта и желудочно-кишечный тракт	729
ГЛАВА 16. Печень и желчный пузырь	797
ГЛАВА 17. Поджелудочная железа	845
ГЛАВА 18. Мужская половая система и нижние мочевые пути	859
ГЛАВА 19. Женская половая система и молочные железы	887
ГЛАВА 20. Эндокринная система	929
ГЛАВА 21. Болезни костей, суставов, опухоли мягких тканей	987
ГЛАВА 22. Периферическая нервная система и мышечная система	1031
ГЛАВА 23. Центральная нервная система	1047
ГЛАВА 24. Кожа	1097
Предметный указатель	1120

# Клетка как основа здоровья и болезни

<b>Геном</b> . . . . . 13	<b>Биосинтетический аппарат:</b>	<b>Факторы транскрипции</b> . . . . . 36
<i>Некодирующая ДНК</i> . . . . . 13	<i>эндоплазматический ретикулум</i>	<b>Факторы роста и рецепторы</b> . . . . . 36
<i>Организирующая функция гистонов</i>	<i>и аппарат Гольджи</i> . . . . . 27	<b>Внеклеточный матрикс</b> . . . . . 38
<i>в эпигенетической регуляции</i> . . . . 16	<b>Утилизация продуктов</b>	<i>Компоненты внеклеточного</i>
<i>Микро-РНК и длинная некодирующая РНК</i> . . . . . 17	<i>жизнедеятельности клетки:</i>	<i>матрикса</i> . . . . . 40
<b>Структура и функции клетки</b> . . . . . 20	<i>лизосомы и протеасомы</i> . . . . . 28	<b>Сохранение постоянства</b>
<b>Цитоплазматическая мембрана:</b>	<b>Обмен веществ в клетке</b>	<b>клеточной популяции</b> . . . . . 42
<i>защита клетки и контроль</i>	<b>и функции митохондрий</b> . . . . . 30	<i>Пролиферация клеток</i>
<i>поступления питательных</i>	<b>Активация клетки</b> . . . . . 32	<i>и клеточный цикл</i> . . . . . 42
<i>веществ</i> . . . . . 21	<i>Клеточные сигналы</i> . . . . . 32	<i>Стволовые клетки</i> . . . . . 45
<b>Цитоскелет</b> . . . . . 25	<i>Пути передачи сигналов</i> . . . . . 33	<i>Заключение</i> . . . . . 47
<b>Межклеточные взаимодействия</b> . . . 26	<i>Модульные сигнальные белки,</i>	
	<i>«хабы» и узлы</i> . . . . . 35	

Патология дословно означает изучение страдания (в греческом языке *pathos* означает страдание, а *logos* — исследование). (В современной медицине термин «патология» используется как синоним термина «патологическая анатомия». Создана новая область патологии — «Молекулярная патология», которая объединяет изучение проявлений и механизмов развития патологических процессов и болезней на клеточном, генетическом и молекулярном уровнях. — *Примеч. ред.*) Что касается современной медицины, то патологическая анатомия подразумевает изучение болезни. Рудольф Вирхов (R. Virchow) был абсолютно прав, утверждая, что болезнь начинается с клетки, но мы только сейчас поняли, что изменения, возникающие на клеточном уровне, обусловлены изменениями на молекулярном уровне (гены, белки и другие компоненты), и это влияет на выживание и поведение клеток. Таким образом, основа современной патологической анатомии — понимание клеточной и молекулярной патологии, которые приводят к заболеванию. Важно рассматривать патологию в контексте нормальной структуры и функции клетки, что является предметом обсуждения вводной главы.

Абсолютно нереально (да, собственно, и нежелательно) попытаться вместить всю обширную и увлекательную биологию клетки в одну главу. Поэтому вместо обширного обзора мы хотели бы обсудить основные принципы и последние достижения в области биологии клетки, имеющие

отношение к механизмам развития болезней, что будет представлено во всех остальных главах учебника.

## ГЕНОМ

Секвенирование генома человека в начале XXI в. можно с полным правом отнести к принципиальным достижениям биомедицинских наук. Быстро снижающаяся стоимость секвенирования и технические возможности анализировать огромные базы данных способны революционизировать наше понимание здоровья и болезни. В то же время функционирование генома человека оказалось гораздо сложнее и связано не только с расшифровкой его линейной последовательности. Новые мощные технологии расширили наше понимание патогенеза и дали толчок для инновационных разработок в области лечения, что вдохновило ученых на дальнейшие исследования.

## Некодирующая ДНК

Размер гена человека составляет около 3,2 млрд пар оснований дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). В то же время в геноме содержится примерно 20 000 генов, кодирующих белки, что составляет только 1,5% генома. Белки, кодируемые этими генами, являются основой клетки и функционируют как ферменты, структурные элементы

и сигнальные молекулы. Конечно, 20 000 генов не определяют реальное число кодируемых белков [многие гены продуцируют разные транскрипты рибонуклеиновой кислоты (РНК), которые кодируют различные изоформы белка], тем не менее поразительно, что у червей, состоящих из менее чем 1000 клеток, с геномом в 30 раз меньшим человеческого, насчитывается примерно 20 000 генов, кодирующих белки. Но более загадочным является факт, что многие из этих белков представляют собой узнаваемые гомологи молекул, которые экспрессируются у человека. В таком случае чем человек отличается от червя?

Ответа на этот вопрос пока нет, но, имеются данные, что различия заключаются в части генома человека, который не кодирует белки и составляет 98,5% его объема. Функция таких длинных участков ДНК (которые называют темной материей генома) оставалась непонятной на протяжении многих лет. Однако в настоящее время стало ясно, что более 85% генома человека транскрибируется, при этом почти 80% связано с регулированием экспрессии генов. Следовательно, можно сделать вывод, что, с одной стороны, белки (синтез которых кодируется геномом. — *Примеч. ред.*) обеспечивают строительным материалом и регулируют процессы, необходимые для поддержания клеток, тканей и организмов, но, с другой — некодирующие области генома обеспечивают «архитектурное планирование».

Основные классы *некодирующей ДНК*, выявленные в геноме человека, включают (рис. 1.1) следующее.

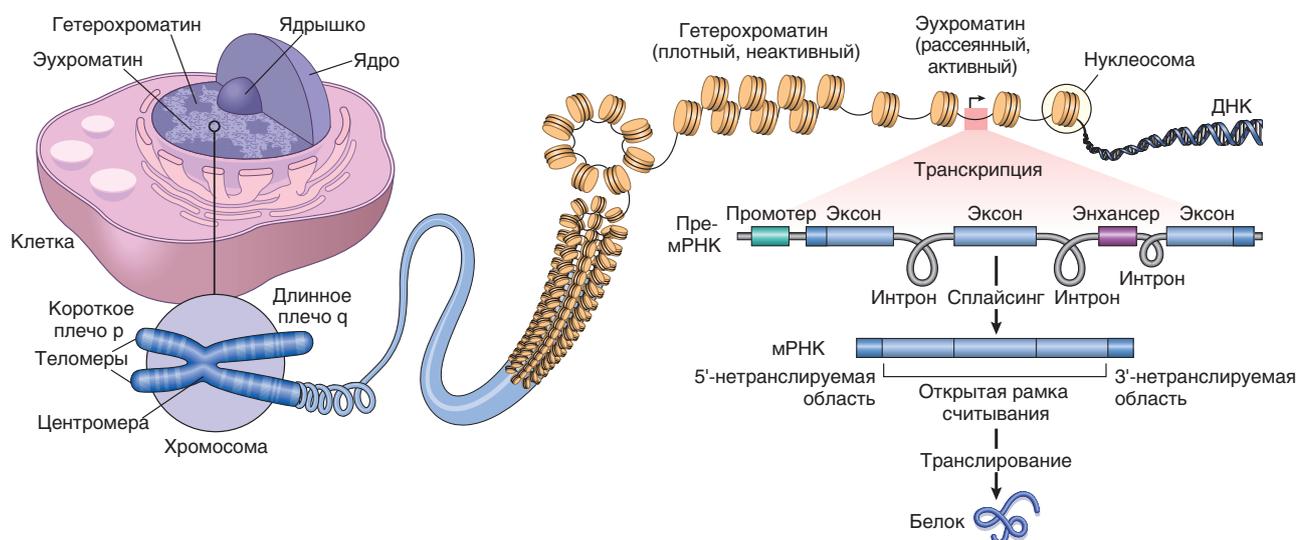
- Области *промотора* и *энхансера*, которые связывают факторы, осуществляющие транскрипцию белка.
- Места связывания белков, которые «организуют и поддерживают» более сложные *хроматиновые структуры*.
- *Некодирующие регуляторные РНК*. Из 80% генома, связанных с регулирующей функцией, подавляющее большинство осуществляет транскрибирование РНК — с образованием микро-РНК и длинных некодирующих РНК (см. ниже), которые никогда не транскрибируют белок, но могут регулировать экспрессию гена.
- *Мобильные генетические элементы* [например, *транспозоны* («прыгающие» гены, транспозоны, представляют собой последовательности ДНК, которые перемещаются из одного места в геноме в другое. Эти элементы были впервые обнаружены более 50 лет назад генетиком Барбарой МакКлинток из лаборатории Колд Спринг Харбор в Нью-Йорке. — *Примеч. ред.*)]. Примечательно, что более трети человеческого генома состоит из так называемых прыгающих генов. Эти сегменты «путешествуют» по геному и также участвуют в регуляции генов и организации хроматина.
- Специальные структурные области ДНК, в том числе *теломеры* (концы хромосом) и *центроме-*

*ры* («перевязка» хромосомы) (центромер — участок хромосомы, который связывает сестринские хроматиды, играет важную роль в процессе деления клеточного ядра и участвует в контроле экспрессии генов. Характеризуется специфическими последовательностью нуклеотидов и структурой. — *Примеч. ред.*).

Важно отметить, что **многие генетические вариации (полиморфизмы), связанные с различными заболеваниями, расположены в некодирующих белки участках генома**. Таким образом, вариации регуляции генома являются более важным фактором для развития заболевания, чем структурные изменения специфических белков. Еще один сюрприз, который преподнесло секвенирование генома, состоит в том, что ДНК двух человек более чем на 99,5% идентичны друг другу (а ДНК человека и шимпанзе идентичны на 99%)! Таким образом, индивидуальные вариации, включая индивидуальную восприимчивость к болезням и воздействиям окружающей среды, закодированы в <0,5% нашей ДНК (и важно, что эти 0,5% представляют практически 15 млн комплементарных пар оснований нуклеиновых кислот).

Две наиболее распространенные формы вариации ДНК в геноме человека включают *однонуклеотидные полиморфизмы (SNP)* и *изменения числа копий (CNV)*.

- **Однонуклеотидные полиморфизмы** — это изменения в последовательности ДНК в один нуклеотид. Они почти всегда являются двувалентными (существует только два варианта в конкретной локации у населения, например А или Т). Более 6 млн однонуклеотидных полиморфизмов было выявлено у человека, при этом частота встречаемости у различных групп населения отличается. Стоит отметить следующие характеристики.
- Однонуклеотидные полиморфизмы возникают по всему геному — внутри экзонов, интронов, в межгенных участках и участках кодирования.
- Примерно 1% однонуклеотидных полиморфизмов возникает в участках кодирования, что соответствует числу изменений, которые могут возникнуть случайно, поскольку участки кодирования составляют около 1,5% генома.
- Однонуклеотидные полиморфизмы, возникающие в некодирующих участках, могут встречаться в регуляторных элементах генома и тем самым менять экспрессию генов. В таких случаях однонуклеотидный полиморфизм может непосредственно влиять на восприимчивость к заболеванию.
- Однонуклеотидные полиморфизмы могут иметь «нейтральные» варианты, которые не оказывают влияния на функцию гена или фенотип носителя.
- Даже «нейтральные» однонуклеотидные полиморфизмы могут использоваться в ка-



**Рис. 11.** Строение ядерной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). При световой микроскопии генетический материал виден в ядре как дисперсный транскрипционно активный *эухроматин* или как плотно упакованный транскрипционно неактивный *гетерохроматин*. Хроматин может быть связан с ядерной мембраной, и, следовательно, нарушение целостности ядерной мембраны повлияет на транскрипцию. Хромосомы (показано на рисунке) можно увидеть только при помощи светового микроскопа при делении клетки. Во время митоза хромосомы представляют собой парные хроматиды, связанные *центромерами*. Центромеры имеют участки белковых комплексов — *кинетохоры* (кинетохор — белковая структура на хромосоме, к которой крепятся волокна веретена деления во время деления клетки. — *Примеч. ред.*), регулирующие разделение хромосом в метафазе. *Теломеры* представляют собой повторяющиеся нуклеотидные последовательности, которые ограничивают концы хроматид и способствуют репликации хромосом без утраты ДНК на концах хромосом. Хроматиды образуют короткие — «Р» (*petite*) плечики и длинные — «Q» (следующая после буквы «Р» в английском алфавите) плечики. Хроматиды имеют полосатый вид, который зависит от содержания в них ГЦ (гуанина и цитозина); в полосах ГЦ содержится меньше, в промежутках — больше, при этом гены имеют тенденцию локализоваться в межзонных областях. Отдельные волокна хроматина состоят из цепочек нуклеосом, в которых ДНК намотана вокруг октамерных гистоновых ядер и связана с ними посредством ДНК-линкеров. Промоторы — это некодирующие участки ДНК, которые инициируют транскрипцию конкретного гена; они находятся на одной и той же линии и «вверх по течению» (нуклеотиды, расположенные до инициирующего кодона) (килобаза, кб [kilobase, kb; франц. kilo, от греч. *chilioi* — тысяча и англ. base — основание] — единица измерения, используемая для выражения длины нуклеиновых кислот. 1 кб = 1000 нуклеотидов в рибонуклеиновой кислоте и одноцепочечной ДНК или пар нуклеотидов в двуцепочечной ДНК. — *Примеч. ред.*). Энхансеры — это регуляторные элементы, которые могут модулировать экспрессию генов на расстояниях 100 кб или более, возвращаясь к промоторам и собирая дополнительные факторы, необходимые для стимулирования экспрессии пре-мРНК. Интронные последовательности затем сплайсируются из пре-мРНК для получения окончательного сообщения, которое включает экзоны, транслирующиеся в белок и 3'- и 5'-нетранслируемые области (UTR), обладающие регуляторными функциями. Помимо энхансера, промотора и последовательности UTR, некодируемые элементы находятся во всем геноме, включая короткие повторы, участки, связывающие регуляторный фактор, некодирующие регуляторные РНК и транспозоны

честве меток в случаях наследования гена, связанного с заболеванием, в результате близкого расположения. Другими словами, однонуклеотидные полиморфизмы и причинный генетический фактор определяют *неравновесное сцепление генов*.

- Влияние большинства однонуклеотидных полиморфизмов на восприимчивость к заболеваниям незначительно; еще предстоит установить, насколько выявление таких вариаций (единичных или комбинированных) полезно с позиций разработки эффективных методов диагностики заболеваний или их профилактики.
- Изменение числа копий — это форма генетической вариации, состоящая из разного числа больших смежных участков ДНК. Они могут варьировать от 1000 до миллионов пар оснований. В некоторых случаях эти локусы (как и однонуклеотидные полиморфизмы) являются двувалентными и просто дублируются или удаляются

у определенной категории населения. В других случаях возникают сложные перестройки геномного материала с множественными аллелями в человеческой популяции. Изменение числа копий объясняет разницу в последовательности в несколько миллионов пар оснований между любыми двумя людьми. По крайней мере 50% изменений числа копий состоит из последовательностей, кодирующих ген. Таким образом, изменение числа копий отвечает за фенотипическое разнообразие людей.

Важно отметить, что *изменения в последовательности нуклеотидов в ДНК сами по себе не могут объяснить разнообразие фенотипов человеческой популяции*. Кроме того, классическое наследование генов не может объяснить разные фенотипы у однояйцевых близнецов. Вероятно, ответы на эти головоломки лежат в области *эпигенетики*, изучающей наследственные изменения в экспрессии генов, которые не вызваны изменениями в последовательности ДНК (см. ниже).

## Организирующая функция гистонов в эпигенетической регуляции

Хотя практически все клетки в организме имеют одинаковый генетический состав, дифференцированные клетки отличаются структурой и функциями, что связано с определенными программами экспрессии генов. Такие клеточные специфические различия в транскрипции и трансляции ДНК регулируются *эпигенетическими* модификациями, которые включают ряд изменений, оказывающих серьезное влияние на экспрессию генов, в том числе следующие.

- **Организация хроматина (рис. 1.2).** Геномная ДНК упакована в нуклеосомы, которые состоят из 147 базовых пар ДНК-сегментов, обернутых вокруг центрального ядра, образованного белками, называемыми *гистонами*. Нуклеосомы напоминают бусины, соединенные короткими ДНК-линкерами. Всю структуру обычно называют *хроматином*. Важно отметить, что «обмотка» и упаковка хроматина в любой клетке меняется в зависимости от участка генома. Ядерный

хроматин существует в двух основных формах (видимый при гистологическом исследовании): *гетерохроматин* — плотный и транскрипционно неактивный и *эухроматин* — рассеянный и транскрипционно активный. Только в эухроматине происходит экспрессия генов и тем самым определяет уникальность клетки и ее активность. Существует множество механизмов, которые жестко регулируют состояние хроматина (см. ниже).

- **Метилирование ДНК.** Высокие уровни метилирования ДНК в регуляторных элементах гена обычно способствуют конденсации хроматина и подавлению экспрессии генов (транскрипционное «молчание»). Как и при модификации гистонов (см. ниже), метилирование ДНК регулируется метилтрансферазами, деметилирующими ферментами и метилированными-ДНК-связывающими белками.
- **Гистон-модифицирующие факторы.** Нуклеосомы — это высокоподвижные структуры, регулируемые массивом ядерных белков и посттрансляционными модификациями.

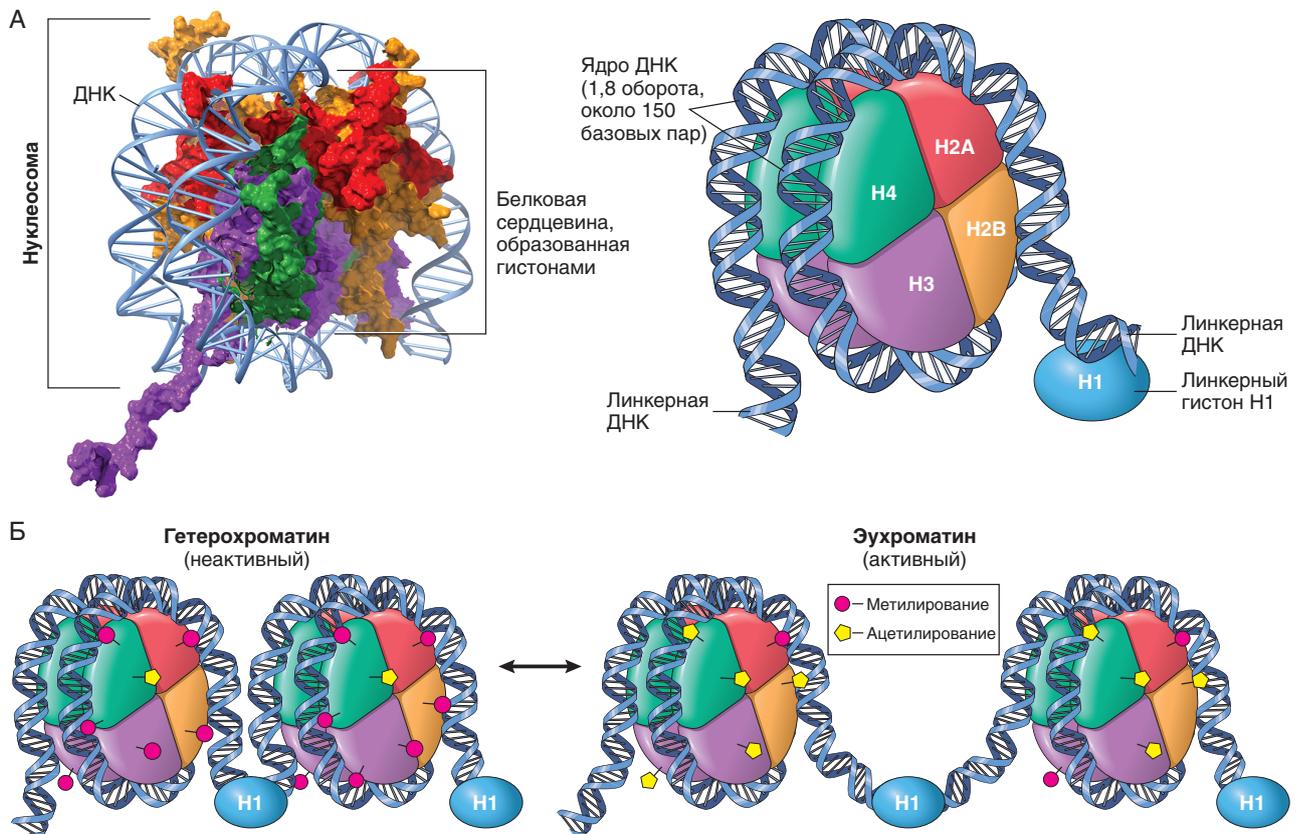


Рис. 1.2. Строение хроматина: А — нуклеосомы состоят из октамеров белков гистонов (по две гистоновые субъединицы H2A, H2B, H3 и H4), окруженных 1,8 петлей 147 базовых пар дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Гистон H1 находится на 20–80-м нуклеотидном линкере ДНК между нуклеосомами и влияет на стабильность целостности хроматина. Субъединицы гистонов положительно заряжены, что позволяет уплотнять отрицательно заряженную ДНК; Б — разматывание петель ДНК (следовательно, открытие доступа к генам, регулирующим транскрипцию) осуществляется путем модификации гистонов, например, путем ацетилирования, метилирования и/или фосфорилирования (так называемые метки). Метки динамично записываются и стираются. Определенные механизмы, например ацетилирование гистонов, «раскрывают» структуру хроматина, тогда как другие, например метилирование определенных остатков гистонов, способствуют уплотнению ДНК, приводя к «молчанию» генов. Сама ДНК также может подвергаться метилированию, то есть модификации, которая связана с инактивацией транскрипции

- *Хроматин-ределлирующие комплексы* могут преобразовывать ДНК нуклеосомы, открывая (или скрывая) регуляторные элементы гена, такие как промотеры.
- *Хроматиновые комплексы-«писатели»* выполняют более чем 70 различных ковалентных модификаций гистонов, обозначаемых как *метки*. К ним относятся метилирование, ацетилирование и фосфорилирование специфического аминокислотного остатка гистона. *Метилирование* лизина и аргинина гистонов выполняется конкретным «пишущим» ферментом. *Метилирование* остатков лизина гистонов может привести к активации или блокированию транскрипционной активации в зависимости от того, какой остаток гистона «отмечен». *Ацетилирование остатков лизина в гистонах* (регулируется гистон-ацетилтрансферазой) способствует разблокированию хроматина и увеличению транскрипции; гистон деацетилазы (HDAC) оказывает обратный эффект, способствуя конденсации хроматина. *Фосфорилирование* остатков серина гистонов может как активировать, так и конденсировать хроматин, увеличивая или уменьшая транскрипцию соответственно.
- Гистоновые «метки» являются обратимыми благодаря активности «хроматиновых ластиков». Другие белки функционируют как хроматиновые комплексы-«читатели», связывающие гистоны, которые несут определенные метки и тем самым способствуют регулированию экспрессии гена.

Механизмы, включенные в клеточно-специфическую эпигенетическую регуляцию организации генома и экспрессии генов, несомненно, являются крайне сложными. Несмотря на все сложности, умение манипулировать этими процессами, вероятно, имеет серьезные терапевтические преимущества, так как большинство заболеваний связано с наследственными или приобретенными эпигенетическими изменениями, например, нарушение регуляции «эпигенома» играет основную роль в развитии доброкачественных и злокачественных новообразований (см. главу 6). Более того, в отличие от генетических изменений, эпигенетические изменения (например, ацетилирование гистонов и метилирование ДНК) легко обратимы и поэтому поддаются терапевтическому вмешательству. Так, ингибиторы HDAC (гистон-деацетилазы) и ингибиторы метилирования ДНК в настоящее время используются для лечения различных форм рака.

## Микро-РНК и длинная некодирующая РНК

Другой механизм регуляции генов зависит от функции некодирующих РНК. Как следует из названия, некодирующие РНК кодируются генами,

которые транскрибируются, но не транслируются. Хотя существует множество различных семейств некодирующих РНК, в данной главе обсуждаются только два: мелкие молекулы РНК (*микроРНК*) и длинные некодирующие РНК, длина которых превышает 200 нуклеотидов.

- *МикроРНК* (miRNA) представляют собой относительно короткие РНК (включающие 22 нуклеотида), которые блокируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне и функционируют для распознавания мРНК-мишеней. **Подавление экспрессии генов на посттранскрипционном уровне с помощью микроРНК является основополагающим и эволюционно закрепленным механизмом генной регуляции, который присутствует у всех эукариотов (растений и животных).** Даже бактерии пользуются упрощенной версией этого механизма для защиты от чужеродной ДНК (например, от фагов и вирусов).
- Геном человека содержит почти 6000 генов, кодирующих микроРНК, что практически в 3,5 раза меньше числа генов, кодирующих белки. Более того, по всей видимости, отдельные микроРНК регулируют множество генов, кодирующих белки, что позволяет каждой микроРНК одновременно регулировать целые программы экспрессии генов. Транскрипция генов микроРНК способствует появлению первичной микроРНК (pri-miRNA), которая постепенно преобразуется в небольшие фрагменты за счет процесса обрезания ферментом Dicer. Это приводит к генерации зрелых одноцепочечных микроРНК длиной от 21 до 30 нуклеотидов, которые вызывают образование мультибелковых комплексов, называемых РНК-индуцируемыми комплексами выключения гена (RNA-induced silencing complex — RISC, [рис. 1.3](#)). Последующее образование базовых пар между микроРНК и ее РНК-мишенью позволяет RISC либо индуцировать расщепление РНК-мишени, либо подавить ее трансляцию. Таким образом, РНК-мишень подвергается *посттранскрипционному молчанию*.

*Малые интерферирующие РНК* (siRNA) представляют собой короткие последовательности РНК, которые могут быть введены в клетки. Они служат в качестве субстратов для Dicer и взаимодействуют с комплексом RISC аналогично эндогенным микроРНК. Синтетические малые интерферирующие РНК, которые могут метить специфические виды микроРНК, представляют собой мощный лабораторный инструмент для изучения функции генов (так называемая технология нокдауна). Синтезированные малые интерферирующие РНК также являются перспективными как терапевтические средства, подавляющие экспрессию патогенных генов, например онкогенов, вовлеченных в опухолевую трансформацию.

- *Длинная некодирующая РНК* (lncRNA). Геном человека содержит очень большое число некоди-

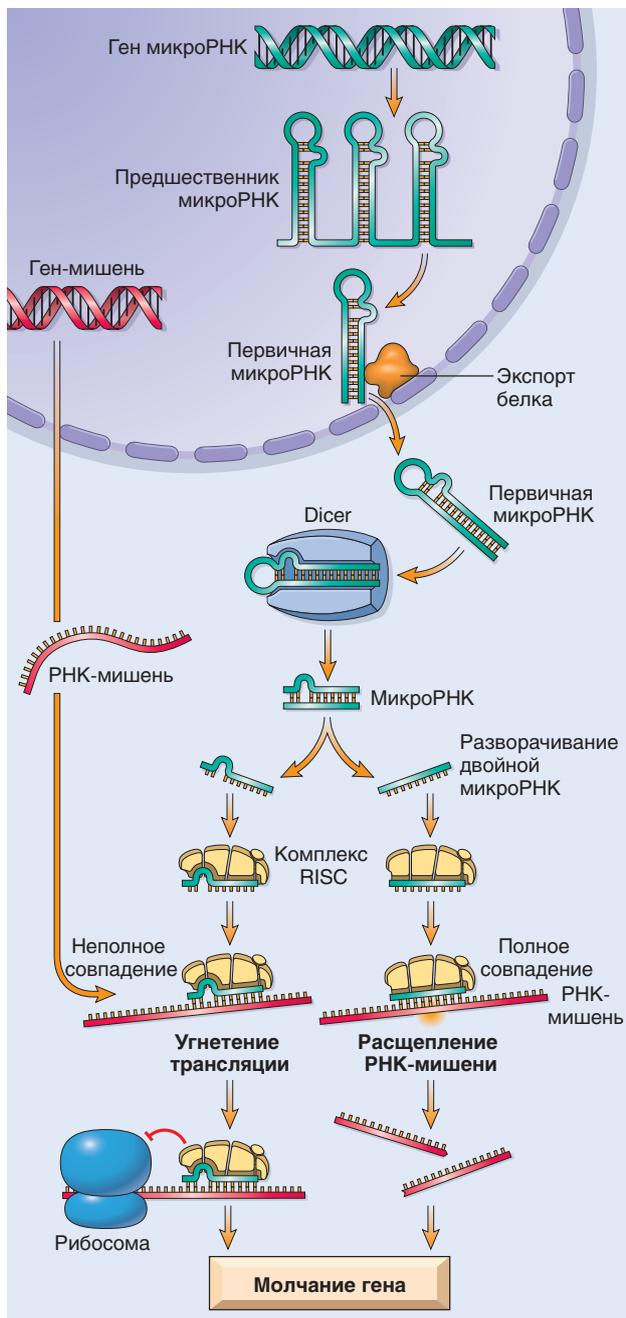


Рис. 13. Образование микроРНК (miRNA) и их регулирование функции гена. Гены микроРНК транскрибируются для образования первичной микроРНК (pri-miRNA), которая обрабатывается внутри ядра, что приводит к формированию предшественника микроРНК (pre-miRNA), состоящего из одной цепи РНК с вторичными структурами в виде шпильчатой петли, которые образуют участки двуцепочечной РНК. После того как этот предшественник РНК покидает ядро с помощью определенных белков-транспортеров, цитоплазматический фермент Dicer «обрезает» предшественника РНК и образуются зрелые двуцепочечные микроРНК длиной от 21 до 30 нуклеотидов. Затем микроРНК последовательно разматывается и полученные одиночные нити вставляются в мультибелковый комплекс RISC. Образование пар оснований между одноцепочечной микроРНК и ее РНК-мишенью направляет RISC либо для расщепления РНК-мишени, либо для подавления ее трансляции. В любом случае происходит посттранскрипционное подавление экспрессии гена на уровне инактивации РНК-мишени

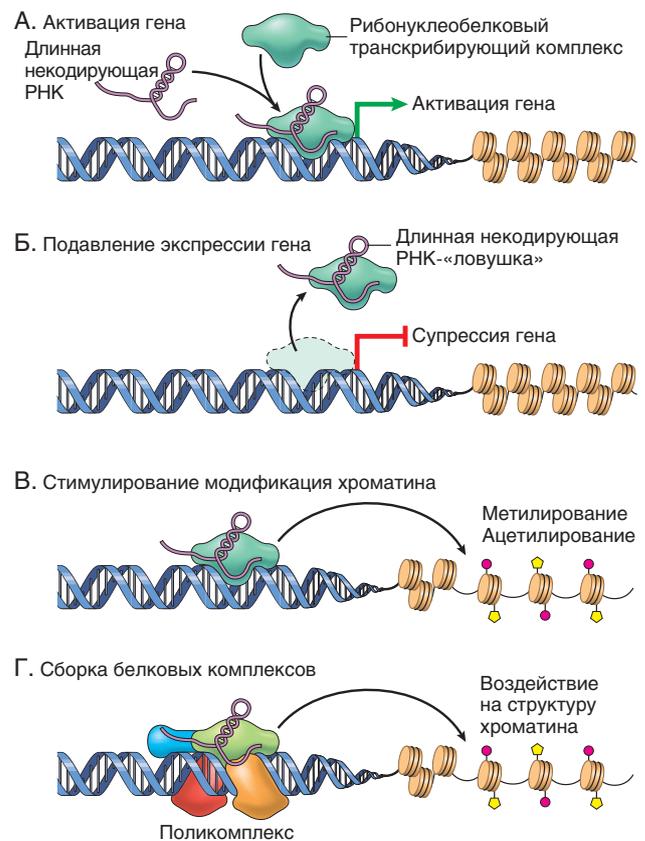


Рис. 14. Роль длинных некодирующих РНК (lncRNAs): А — длинные некодирующие РНК (lncRNAs) могут способствовать связыванию фактора транскрипции и, таким образом, способствовать активации гена; Б — и наоборот, длинные некодирующие РНК могут заранее связывать транскрипционные факторы и тем самым предотвращать транскрипцию гена; В — модификация гистона и ДНК с помощью ацетилазы или метилазы (или деацетилазы и деметилазы) может осуществляться за счет связывания длинных некодирующих РНК; Г — в других случаях длинная некодирующая РНК способствует стабилизации вторичных или третичных структур и/или комплексов, влияющих на общую структуру хроматина либо активность генов (рисунок адаптирован из Wang K.C., Chang H.Y. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs // Mol Cell. 2011. Vol. 43. P. 904)

рующих РНК — не менее 30 000, что в 10–20 раз превышает число кодирующих РНК-мишеней. Длинные некодирующие РНК модулируют экспрессию генов различными способами (рис. 1.4): они могут связываться с участками хроматина, ограничивая доступ РНК полимеразы к кодирующим генам в данном участке. Самый известный пример подавления функции включает XIST (X chromosome inactivator), который транскрибируется из X-хромосомы и играет важную роль в физиологической инактивации X-хромосомы. Молекулы XIST «окутывают» в виде кокона X-хромосому, что приводит к отключению генов. Было установлено, что многие энхансеры содержат сайты синтеза длинной некодирующей РНК, способной активировать транскрипцию генных промоторов посредством нескольких механизмов

(см. рис. 1.4). Продолжающиеся исследования способствуют изучению роли длинной некодирующей РНК при таких заболеваниях, как атеросклероз и злокачественные опухоли.

## Редактирование генома

Новые разработки, от которых просто дух захватывает, позволяют осуществлять «редактирование» генома и знаменуют начало молекулярной революции. Все началось совершенно неожиданно — после открытия коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами (clustered regularly interspaced short palindromic repeats CRISPR) и Cas (генов, ассоциированных с CRISPR) (короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами, — особые локусы в геноме бактерий, архей и эукариотов, состоящие из прямых повторяющихся последовательностей, разделенные уникальными последовательностями — спейсерами. — *Примеч. ред.*). Они представляют собой генетически связанные элементы, которые обеспечивают прокариотам приобретенный иммунитет к фагам и плазмидам. Бактерии используют эту систему для отбора ДНК инфицирующих агентов, который встраивается в геном хозяина в виде CRISPR. Короткие палиндромные повторы транскрибируются и обрабатываются в последовательность РНК, которая связывает и направляет нуклеазу Cas9 в фаг, что приводит к расщеплению нуклеазы и разрушению фага. Редактирование гена повторяет данный процесс при использовании искусственных РНК-гидов (gRNA), которые связывают Cas9 и являются комплементарными к нужной последовательности ДНК. После направления в нужную последовательность ДНК с помощью РНК-гида (gRNA), Cas9 индуцирует двуцепочечные разрывы ДНК.

Восстановление возникших специфических участков расщепления может привести к случайным разрушающим мутациям в последовательностях-мишенях (посредством негомологичного соединения концов — NHEJ-nonhomologous end joining) или к точному внедрению новых нужных последовательностей (путем гомологичной рекомбинации). Как РНК-гид (gRNA), так и фермент Cas9 могут быть доставлены в клетки с помощью одной простой созданной плазмиды (рис. 1.5). Однако совершенство системы (и восторг по поводу ее генно-инженерного потенциала) заключается в ее впечатляющей гибкости и специфичности, которая значительно совершеннее, чем другие системы редактирования. Применение системы предполагает введение специфических мутаций в геном клеток для моделирования злокачественных опухолей и других заболеваний, а также ускоренного выращивания трансгенных животных из «редактированных» эмбриональных стволовых клеток. В настоящее время стало возможным выборочно «исправлять» мутации, которые вызывают наследственные заболевания, или просто устранить

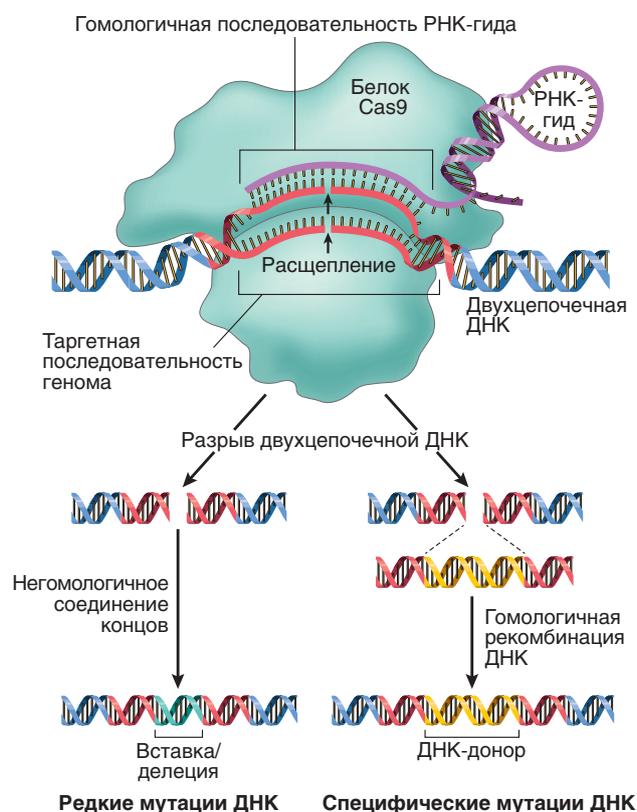


Рис. 1.5. Редактирование гена с помощью регулярно расположенных групп коротких палиндромных повторов (CRISPR)/Cas9. В бактериях последовательности ДНК, состоящие из CRISPR, транскрибируются в РНК-гиды (gRNAs) с постоянным участком и переменной последовательностью приблизительно в 20 оснований. Постоянные участки РНК-гидов (gRNA) связываются с Cas9, позволяя вариабельным участкам образовывать гетеродуплексы с гомологичными последовательностями ДНК-клеток хозяина. Нуклеаза Cas9 затем расщепляет связанную ДНК, способствуя разрыву двуцепочечной ДНК. Для осуществления генного редактирования РНК-гиды (gRNA) разрабатываются с вариабельными участками, которые являются гомологичными к нужной последовательности ДНК-мишени. Экспрессия РНК-гида и Cas9 в клетках приводит к эффективному расщеплению последовательности в ДНК-мишени. В отсутствие гомологичной ДНК поврежденная ДНК восстанавливается с помощью негомологичного соединения концов (NHEJ), подверженного ошибкам метода, который часто вводит разрушительные вставки или делеции. И наоборот, наличие гомологичной ДНК-«донора» с включением участка, являющегося мишенью для CRISPR/Cas9, предполагает использование гомологичной рекомбинации ДНК (HDR) для восстановления разрыва ДНК. Гомологичная рекомбинация ДНК менее эффективна по сравнению с негомологичным соединением концов, но тем не менее она обладает способностью вводить точные изменения в последовательности ДНК. Потенциальные области применения CRISPR/Cas9 в сочетании с гомологичной рекомбинацией ДНК включают исправление наследственных генетических дефектов и создание патогенных мутаций

«нежелательные» черты (что вызывает особую тревогу). Как и ожидалось, эти технологии вызвали бурное обсуждение по вопросам их практического применения.

## СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ КЛЕТКИ

Жизнеспособность и активность клеток зависят от целого ряда фундаментальных функций, которые должны осуществлять все дифференцированные клетки.

**Многие фундаментальные функции направлены на поддержание гомеостаза в клетке и зависят от со-**

**стояния внутриклеточных органелл (рис. 1.6).** Выполнение определенных функций клетками, входящими в определенные компартменты, позволяет накапливать и изолировать потенциально вредные разрушительные ферменты или активные продукты обмена в определенных органеллах без риска повреждения других компонентов клетки. Более того, такая организация позволяет поддерживать

Относительный объем внутриклеточных органелл (в гепатоците)

Компоненты клетки	Общий объем, %	Количество в клетке	Функция
Цитозоль	54	1	Метаболизм, транспорт, транспорт белков
Митохондрия	22	1700	Образование энергии, апоптоз
Шероховатый эндоплазматический ретикулум	9	1*	Синтез мембранных и секреторных белков
Гладкий эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи	6	1*	Модификация белков, сортировка, катаболизм
Ядро	6	1	Регулирование клетки, размножение, транскрипция ДНК
Эндосомы	1	200	Внутриклеточный транспорт и экспорт отработанного материала, поглощение внеклеточного материала
Лизосомы	1	300	Клеточный катаболизм
Пероксисомы	1	400	Метаболизм длинноцепочечных жирных кислот

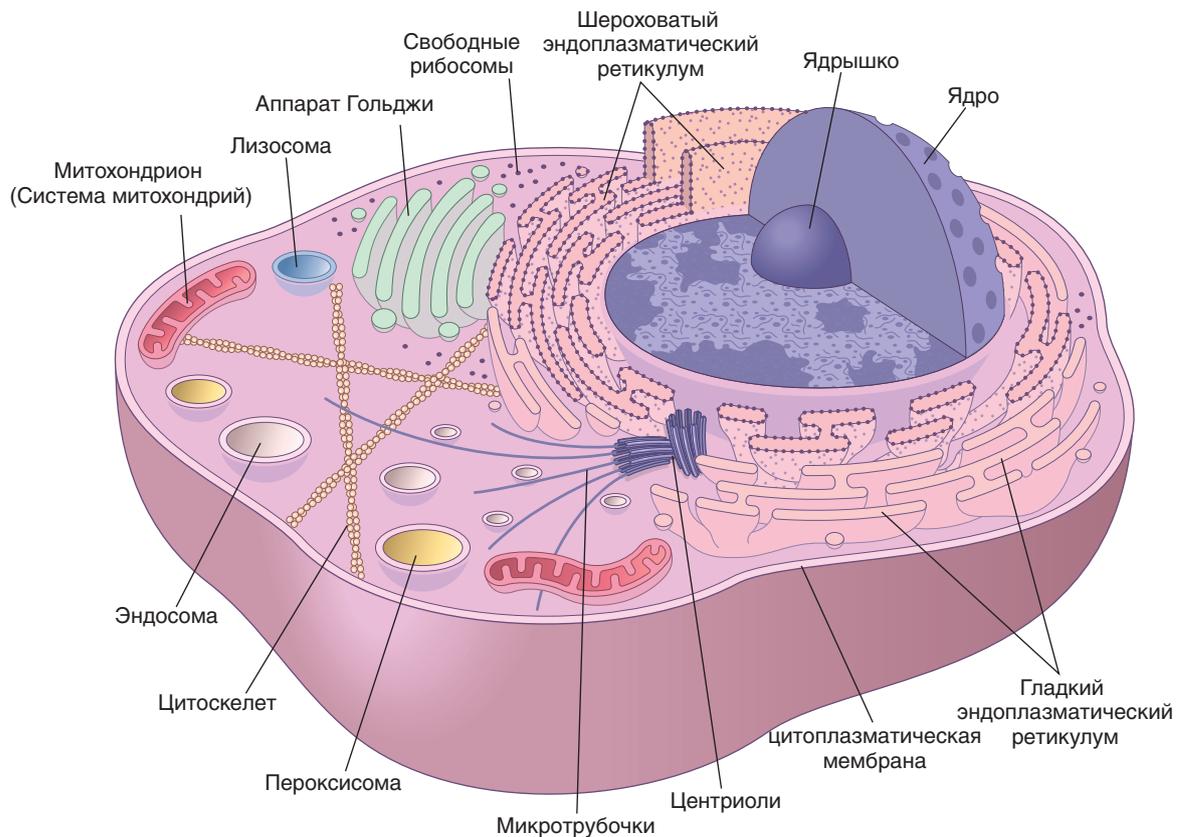


Рис. 1.6. Основные внутриклеточные компоненты. В таблице представлены число органелл в гепатоците и объем, занимаемый ими внутри клетки. На рисунке показана «география» клетки, однако данный рисунок не в полной мере отражает масштаб внутриклеточных компонентов. \*Шероховатый и гладкий эндоплазматический ретикулум образуют единую сеть; аппарат Гольджи представляет собой комплекс из цистерн, соединенных между собой транспортными (пузырьками) везикулами. (рисунок адаптирован из Weibel E.R., Stäubli W., Gnägi H.R., et al. Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell. I. Morphometric model, stereologic methods, and normal morphometric data for rat liver // J Cell Biol. 1969. Vol. 42. P. 68.)

уникальный внутриклеточный гомеостаз (например, низкий рН или высокий уровень кальция), что создает оптимальные условия для реализации активности специализированных ферментов или путей обмена.

Белки цитоплазматической мембраны и секретируемые белки образуются в *шероховатом эндоплазматическом ретикулуме (ЭР)*, процесс упаковки секретируемых белковых продуктов происходит в *аппарате Гольджи*. Белки цитозоля синтезируются на свободных рибосомах. *Гладкий ЭР* может быть развитым в некоторых клетках, например, таких, как клетки гонад и печени, где он является местом синтеза стероидных гормонов и липопротеинов, а также местом модификации гидрофобных соединений (например, лекарственных препаратов в водорастворимые молекулы для последующего выведения).

Клетки катаболизируют разнообразные молекулы, попадающие в них, например, путем эндоцитоза, а также собственные белки, включая белки органелл, которые постоянно разрушаются и обновляются. Разрушение этих элементов происходит в трех различных участках, выполняющих в итоге различные функции.

- *Протеасомы* — это внутриклеточные органеллы, содержащие сложный белковый аденозинтрифосфат (АТФ)-зависимый комплекс, в котором расщепляются денатурированные белки, а также таргетные цитозольные протеины и пептиды. В некоторых случаях образованные таким образом пептиды представляют собой молекулы I класса главного комплекса гистосовместимости (МНС), участвующего в поддержании и регуляции приобретенного иммунитета (см. главу 5). В других случаях расщепление регуляторных белков или факторов транскрипции в протеасомах может инициировать либо блокировать клеточные сигнальные пути.
- *Лизосомы* — это внутриклеточные органеллы, содержащие ферменты, которые переваривают различные макромолекулы, в том числе белки, полисахариды, липиды и нуклеиновые кислоты. В лизосомах происходит разрушение захваченных микробов и поврежденных фрагментов клеток.
- *Пероксисомы* — это специализированные клеточные органеллы, содержащие каталазу, пероксидазу и другие окислительные ферменты. Особую роль пероксисомы играют в разрушении длинных цепей жирных кислот и образовании перекиси водорода в ходе этого процесса.

Внутреннее содержимое органелл клетки, как и положение самих органелл, регулируется определенными правилами. С помощью *эндосом (везикул)* переработанный материал перемещается внутрь клетки, вновь синтезированные продукты доставляются в определенные участки клетки, сразу на поверхность клетки или в конкретные органеллы. Движение органелл и белков внутри клетки, как и движение самой клетки, регулирует-

ся цитоскелетом клетки. Кроме того, структурные белки определяют внутриклеточную организацию, форму и полярность клетки. Это особенно важно для эпителия, в котором находится верхний отдел клетки (*апикальная поверхность*), нижний отдел клетки и боковые поверхности клетки (*базолатеральные поверхности*), нередко подвергающиеся воздействию различных факторов и обладающие отличными функциями.

Основное количество АТФ, служащего источником энергии для клеток, образуется в митохондриях путем окислительного фосфорилирования. Более того, митохондрии являются источником продуктов промежуточного обмена, необходимых для анаболизма. Также в митохондриях синтезируются отдельные макромолекулы (например, гем) и содержатся важнейшие регуляторы повреждения клеток, которые могут инициировать и контролировать гибель клеток путем апоптоза.

Клеточный цикл и жизнедеятельность клетки постоянно испытывают необходимость в потреблении энергии и строительных материалах для синтеза макромолекул. В растущих и делящихся клетках воспроизводятся все органеллы (*органический биогенез*), а в дальнейшем материал равномерно распределяется между двумя дочерними клетками (*митоз*). Притом макромолекулы и органеллы имеют определенную продолжительность жизни (например, митохондрии живут всего 10 дней), и поэтому в клетке существуют механизмы, которые позволяют сначала обнаружить, а потом уничтожить «отработанные» компоненты. Их окончательное разрушение (катаболизм) происходит в лизосомах.

После такого краткого введения мы можем перейти к более подробному обсуждению компонентов клетки и их функций.

### Цитоплазматическая мембрана: защита клетки и контроль поступления питательных веществ

Цитоплазматическая мембрана (и также мембраны всех органелл) — это больше, чем просто липидная оболочка. Скорее всего, они являются эластичными двуслойными структурами, которые включают амфипатические фосфолипиды с гидрофильными «головками», контактирующими с водной средой, и гидрофобные липидные «хвосты», взаимодействующие друг с другом и образующие барьер для пассивной диффузии крупных и заряженных молекул (рис. 1.7, А). Двойной слой состоит из различных асимметрично расположенных фосфолипидов — определенные мембранные липиды связаны преимущественно с экстрацеллюлярной или цитозольной (внутренней) поверхностью. Асимметричное распределение фосфолипидов играет важную роль в ряде клеточных процессов.

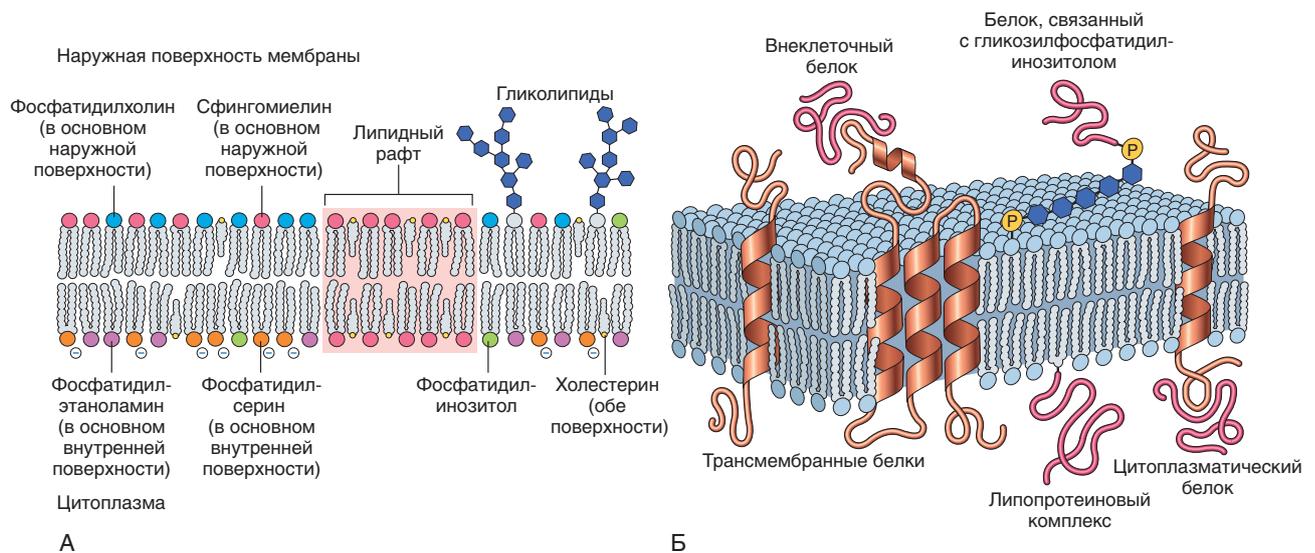


Рис. 1.7. Строение цитоплазматической мембраны: А — цитоплазматическая мембрана состоит из двойного слоя фосфолипидов, холестерина и связанных с ними белков. Фосфолипиды внутри мембраны распределены асимметрично; *фосфатидилхолин* и *сфингомиелин* представлены в большем количестве во внешней оболочке, а *фосфатидилсерин* (имеющий отрицательный заряд) и *фосфатидилэтаноламин* преобладают во внутреннем слое мембраны. Гликолипиды встречаются только во внешнем слое мембраны, где они участвуют во внеклеточном гликокаликсе. С неслучайным распределением отдельных компонентов мембраны (например, холестерина) связано образование мембранных доменов — липидных рафтов; Б — связанные с мембраной белки проходят сквозь мембрану (однократно или многократно) через  $\alpha$ -спиральные гидрофобные аминокислотные остатки; в зависимости от гидрофобности аминокислотных остатков такие белки могут быть включены или исключены из липидных рафтов и других мембранных доменов. Цитозольные белки могут связываться с мембраной посредством посттрансляционных модификаций, например фарнезилирования или добавления пальмитиновой кислоты. Белки внешней поверхности цитоплазматической мембраны связаны с мембраной посредством гликозил-фосфатидил-инозитольных связей. Помимо взаимодействий мембранных белков между собой, они могут также связываться с внеклеточными и/или внутриклеточными белками и образовывать крупные относительно стабильные комплексы (например, *фокальный адгезивный комплекс*). Трансмембранные белки могут передавать через мембрану как механические (например, из цитоскелета и экстрацеллюлярного матрикса), так и химические сигналы. Следует помнить, что в мембранах различных органелл существует аналогичная организация липидов и связанных с ними белков

- *Фосфатидилинозитол* на внутренней клеточной мембране может быть фосфорилирован и используется как электростатический каркас для внутриклеточных белков. Кроме того, полифосфоинозитиды могут расщепляться фосфолипазой С для образования внутриклеточных вторичных посредников, таких как диацилглицерин и инозитол-трифосфат.
- *Фосфатидилсерин* обычно связан с внутренней поверхностью мембраны, где он получает отрицательный заряд и вовлекается в электростатические взаимодействия с белками. Но если он связывается с внешней поверхностью мембраны, что возникает при апоптозе (запрограммированная смерть клетки), то посылает сигналы фагоцитам «съешь меня». У некоторых тромбоцитов фосфатидилсерин является кофактором свертываемости крови.
- *Гликолипиды* и *сфингомиелин* преимущественно располагаются на внешней поверхности мембраны. Гликолипиды (и, в частности, ганглиозиды со сложными комплексами сахаров и остатками сиаловых кислот несут отрицательный заряд) важны для межклеточных взаимодействий, для взаимодействий клеточек с внеклеточным матриксом, включая мобилизацию

клеток при воспалении и адгезию между сперматозоидами и яйцеклеткой.

В цитоплазматической мембране имеются особые домены — *липидные рафты* — соединения, расположенные между обеими сторонами двуслойной мембраны. В результате того что встроены в мембрану белки различной степенью растворимости в разных липидных доменах, часть белков накапливается в одних участках мембран (например, в липидных рафтах) и не накапливается в других. Такое неслучайное распределение липидов и мембранных белков влияет как на взаимодействия клеток с внеклеточным матриксом, так и на внутриклеточные сигналы и образование специализированных участков цитоплазматических мембран, выполняющих секреторную или функцию эндоцитоза.

**Цитоплазматическая мембрана представлена разнообразными белками и гликопротеинами, которые участвуют: в 1) транспорте ионов и продуктов обмена; 2) жидкофазном пиноцитозе, рецепторном эндоцитозе и 3) во взаимодействии клетки с лигандами, клеткой с внеклеточным матриксом и между клетками.** Белки взаимодействуют с липидным би-слоем посредством одного из четырех известных механизмов (рис. 1.7, Б).

- Большинство белков являются трансмембранными (*интегральными*), имеют один или несколько относительно гидрофобных  $\alpha$ -спиральных сегментов, проникающих через двойной липидный слой. Интегральные мембранные белки обычно содержат положительно заряженные аминокислоты в цитоплазматических доменах, которые привязывают белки к отрицательно заряженным «головкам» мембранных фосфолипидов.
- Синтезированные в цитозоле белки поступают в ЭР, где подвергаются посттрансляционным модификациям — присоединению к пренильным группам (например, фарнезил, связанный с холестерином) или жирным кислотам (например, пальмитиновая или миристиновая кислота), которые встраиваются в цитозольную поверхность цитоплазматической мембраны.
- Прикрепление к мембранам может происходить с участием гликозилфосфатидилинозита на внешней поверхности мембраны.
- Внеклеточные белки могут связываться с трансмембранными белками посредством нековалентных связей, которые помогают прикрепить их к клетке.

**Многие белки цитоплазматической мембраны функционируют вместе как крупные комплексы; они могут формироваться под контролем молекул шаперонов в шероховатом ЭР или посредством латеральной мембранной диффузии (перемещение мембранных белков вдоль би-слоя).** Латеральная мембранная диффузия характерна для многих белковых рецепторов (например, рецепторов цитокинов), которые в виде димеров и тримеров в присутствии лигандов образуют функциональные сигнальные единицы. Хотя двойной слой липидов отличается текучестью в пределах двуслойной мембраны, движения в пределах мембраны ограничены доменами. Эти ограничения осуществляются или за счет наличия липидных рафтов (см. выше), или (благодаря белкам) за счет межклеточных *плотных контактов*, которые и устанавливают четкие границы; такая стратегия позволяет сохранять *полярность клетки* (например, верхняя/апикальная по отношению к нижней/базолатеральной) в пласте эпителиальных клеток. Кроме того, уникальные домены образуются при взаимодействии мембранных белков с молекулами цитоскелета или внеклеточного матрикса.

Наружная поверхность цитоплазматической мембраны диффузно усеяна углеводами не только в виде комплексов сложных олигосахаридов на гликопротеинах и гликолипидах, но и в виде полисахаридных цепей, соединенных с *интегральными мембранными* протеогликанами. Функции *гликокаликса* связаны с созданием химического и механического барьера, а также с участием в формировании *межклеточных* и *клеточно-матриксных* взаимодействиях.

### Пассивный мембранный транспорт

Мелкие молекулы с неполярными ковалентными связями (например,  $O_2$  и  $CO_2$ ) легко растворяются в двуслойной липидной мембране и поэтому быстро по ней перемещаются, как и гидрофобные молекулы (например, стероидные молекулы — эстрадиол и витамин D). Практически также легко проникают через мембрану небольшие молекулы с полярной ковалентной связью (масса  $<75$  Да; например вода, этанол и мочевины). Но двуслойная липидная мембрана становится непреодолимым барьером для более крупных молекул с полярной ковалентной связью и даже для молекул, которые не намного больше 75 Да, например глюкозы. Двойная липидная мембрана также непроницаема для ионов из-за их заряда и высокой степени гидратации, при этом вне зависимости от их размера. Далее мы обсудим особые механизмы, регулирующие транспорт через цитоплазматическую мембрану.

### Белки-носители и каналы

Для каждой крупной молекулы с полярной ковалентной связью, проходящей через мембраны для обеспечения нормального функционирования клетки (для усвоения питательных веществ или удаления отработанного материала), требуется уникальный белковый комплекс в цитоплазматической мембране. Низкомолекулярные соединения (ионы и маленькие молекулы  $<1000$  Да) для этих целей используют *канальные белки* и *белки-носители* (хотя здесь основное внимание уделяется цитоплазматической мембране, но подобные поры и каналы необходимы при прохождении и через мембраны органелл). И каждой проникающей через мембрану молекуле (ионы, сахар, нуклеотид) требуется собственный исключительно специализированный транспорт (например, глюкоза, а не галактоза).

- *Канальные белки* образуют гидрофильные поры, по которым быстро перемещаются растворенные вещества (обычно с ограниченными размерами и зарядом; рис. 1.8).
- *Белки-носители* связывают определенное растворенное вещество и подвергаются серии конформационных изменений для переноса лиганда через мембрану; при этом транспортировка проходит относительно медленно.

В большинстве случаев благодаря градиенту между внутренней и наружной мембранами движение растворенных веществ происходит посредством *пассивного транспорта* (практически все мембраны имеют разницу электрических потенциалов — внутренняя оболочка заряжена отрицательно по отношению к наружной). В ряде случаев *активный транспорт* определенных растворимых веществ осуществляется *против* градиента благодаря концентрации молекул-носителей (не по каналам) с использованием энергии, выделяемой при гидролизе АТФ или связанного ионного градиента. Белки-транспортёры АТФаз, в том числе известный *мультирезистентный белок (MDR)*, осу-

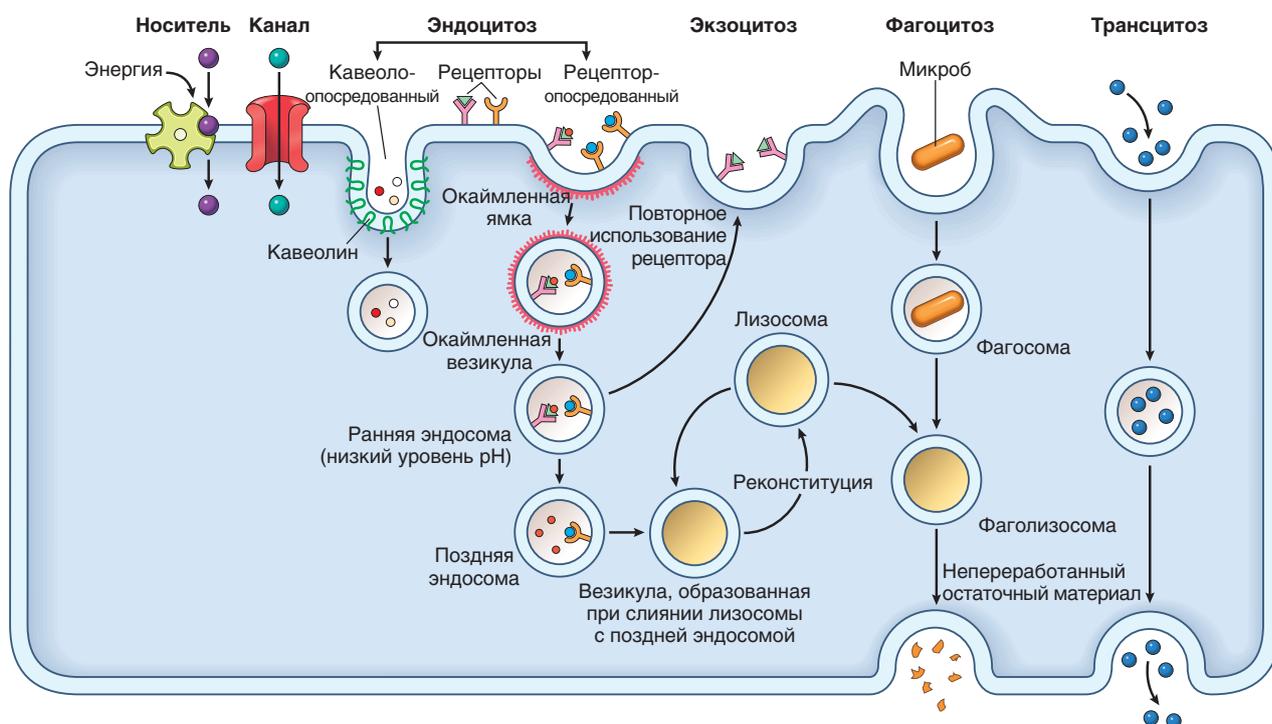


Рис. 18. Движение маленьких и крупных молекул через мембраны. Двуслойная липидная мембрана проницаема для микромолекул и/или наиболее гидрофобных молекул и относительно непроницаема — для всех других молекул. Так, для поступления или выведения заряженных молекул необходимы специфичные трансмембранные транспортные белки; при поступлении и выведении крупных белков, сложных частиц или целых клеток требуется их захват фрагментами цитоплазматической мембраной. Небольшие заряженные растворимые молекулы перемещаются через мембраны либо по каналам, либо за счет переносчика; каждой молекуле необходим свой собственный переносчик (транспортёр). **Каналы** позволяют осуществлять перенос растворенных веществ по их градиенту концентрации. **Транспортёры** необходимы, когда растворенное вещество перемещается *против* градиента концентрации. Рецептор-опосредованное и жидкофазное поглощение материала происходит за счет вакуолей, связанных с плазматической мембраной. В **кавеолах** происходит эндоцитоз — поглощение внеклеточной жидкости, мембранных белков и некоторых рецепторных молекул, осуществляется белком кавеолином, сконцентрированным внутри липидных рафтов. При **пиноцитозе** поглощается внеклеточная жидкость и большинство поверхностных рецептор-лигандных пар за счет образования **везикул** на месте **инвагинаций (ямок)**, покрытых клатриновой оболочкой. После образования и отрыва везикулы клатриновая оболочка быстро диссоциирует, клатрин может использоваться повторно. В ранней и/или поздней эндосоме лиганд может освобождаться от своего рецептора (например, железо, высвобожденное из трансферрина, связанного с рецептором трансферрина), и повторно использовать рецептор на клеточной поверхности. Кроме того, рецептор и лиганд внутри эндосом могут сливаться с лизосомами (например, эпидермальный фактор роста, связанный с его рецептором); после полного разрушения позднего эндосом-лизосомального пузырька возможно образование лизосомы. В специализированных фагоцитах (например, макрофагах или нейтрофилах) при **фагоцитозе** происходит инвагинация цитоплазматической мембраны вокруг крупных частиц (без участия клатрина). В результате образованные фагосомы со временем сливаются с лизосомами для облегчения деградации интернализированного материала. **Трансцитоз** включает трансцеллюлярный эндоцитотический перенос растворенного и/или связанного лиганда с одной поверхности клеточной мембраны на другую. **Экзоцитоз** — это процесс, посредством которого мембранные везикулы сливаются с плазматической мембраной и высвобождают содержимое везикул во внеклеточное пространство

ществляют перенос веществ из клетки (например, химиотерапевтические препараты), формируя полярные насосы, что позволяет опухолевым клеткам приобретать устойчивость к лечению.

Мембраны проницаемы для воды, поэтому движение воды через цитоплазматическую мембрану подчиняется законам осмоса (из области более низкой концентрации в область более высокой концентрации). Так, вода покидает клетку, если концентрация солей вне клетки превышает их содержание внутри клетки (**гипертоничность**), тогда как **гипотоничность** способствует активному транспорту воды в клетку. Цитоплазма — это компонент клетки, содержащий заряженные промежуточные продукты обмена и белки, привлекающие большое

число противоионов, что способствует повышению осмолярности внутри клетки. Поэтому, чтобы предотвратить гидратацию, клетки должны постоянно выводить неорганические ионы маленьких размеров (например,  $\text{Na}^+$ ), как правило, за счет повышения активности мембранных ионообменных АТФаз. Потеря способности вырабатывать энергию (при токсическом или ишемическом повреждении клеток) приводит к осмотическому отеку и даже разрыву клеток. Эти же транспортные механизмы регулируют уровень рН внутри клеток и внутри органелл. Большинство цитоплазматических ферментов проявляет максимальную активность при рН 7,4, тогда как лизосомальные ферменты лучше функционируют при рН 5 или ниже.

## Рецептор-опосредованное и жидкофазное поглощение

Процесс поглощения клеткой жидкостей или макромолекул называется *эндоцитозом* и происходит посредством двух основных механизмов (см. рис. 1.8). Отдельные небольшие молекулы, в том числе и некоторые витамины, поглощаются в местах инвагинаций плазматической мембраны, которые называются кавеолами. Поглощение крупных молекул происходит после связывания молекул с конкретными рецепторами клеточной поверхности (интернализация); процесс происходит в местах инвагинации мембраны при участии белков внутриклеточного матрикса *клатринов*. Клатрин представляет собой гексамер белков, которые спонтанно собираются в полигональную решетку в виде корзинки для реализации процесса инвагинации. Чуть позже мы вернемся к этому вопросу.

Процесс, посредством которого крупные молекулы выводятся из клеток, называется *экзоцитозом*. В ходе этого процесса белки, образованные и упакованные в шероховатом ЭР и аппарате Гольджи, концентрируются в секреторных везикулах, которые затем сливаются с плазматической мембраной и высвобождают их содержимое.

*Трансцитоз* представляет собой транспорт внутриклеточных пузырьков между апикальной и базолатеральной поверхностями клеток. Этот механизм необходим для перемещения большого числа интактных белков через эпителиальные барьеры (например, поглощение антител из материнского молока через эпителий кишечника) или для быстрого перемещения больших объемов растворимых веществ. Усиленный трансцитоз, по всей видимости, играет роль в повышении сосудистой проницаемости при опухолях.

Теперь мы вернемся к двум формам эндоцитоза, о которых упоминали выше.

- *Эндоцитоз, опосредованный кавеолами*. Кавеола («маленькое углубление») представляет собой участки плазматической мембраны в виде углублений, содержащих липидо- и цАМФ-(сАМР)-связанные белки, нерцепторные киназы (SRC-семейства) и рецепторы фолата. Кавеолин является основным структурным белком кавеол. Процесс интернализации кавеолы с любой связанной молекулой и поглощение внеклеточной жидкости называются *потоцитозом*, что означает «клеточное втягивание». Кавеолы участвуют не только в трансмембранном переносе некоторых молекул (например, фолата), они также, по всей видимости, регулируют трансмембранный сигнал и/или клеточную адгезию посредством интернализации рецепторов и интегринов. Мутации в кавеолине приводят к развитию дистрофии мышц и нарушению проведения электрического импульса к сердечной мышце.

- *Пиноцитоз и рецептор-опосредованный эндоцитоз* (см. рис. 1.8). Пиноцитоз («поглощение») представляет собой жидкофазный процесс. Плазматическая мембрана образует ямку (инвагинация) и замыкается с формированием цитоплазматического пузырька, содержащего поглощенные частицы; после доставки содержимого эндоцитозные пузырьки опустошаются, мигрируют обратно к цитоплазматической мембране и могут участвовать в повторном введении веществ в клетку или выведении веществ из клетки (*экзоцитоз*). Эндоцитоз и экзоцитоз представляют собой сбалансированные и активные процессы, поскольку при пиноцитозе каждый час вовлекается 10–20% объема клетки и каждую минуту 1–2% площади цитоплазматической мембраны. Пиноцитоз и рецептор-опосредованный эндоцитоз начинаются с образования *окаймленной ямки*, покрытой клатрином, содержащей лиганд, который должен быть интернализован. Такая ямка быстро инвагинирует и замыкается, формируя *окаймленный пузырек*. Таким образом, пузырек содержит внеклеточный материал или макромолекулы, связанные с рецептором. Везикулы затем быстро теряют свою оболочку и сливаются с внутриклеточными структурами с кислым содержимым — *ранними эндосомами*, которые постепенно созревают до поздних эндосом и в конце сливаются с лизосомами.
- *Рецептор-опосредованный эндоцитоз* является основным механизмом поглощения некоторых макромолекул, таких как трансферрин и липопротеины низкой плотности (ЛПНП). Эти макромолекулы связываются с рецепторами, расположенными в покрытых клатрином ямках. После связывания со специфическими рецепторами ЛПНП и трансферрин заключаются в везикулы, которые созревают в ранние и поздние эндосомы. В кислой среде эндосом ЛПНП и трансферрин высвобождают связанные лиганды (холестерин и железо соответственно), которые затем выходят в цитозоль, а рецепторы ЛПНП и трансферрина впоследствии перерабатываются в плазматическую мембрану. Дефекты рецептор-опосредованного транспорта ЛПНП вызывают развитие семейной гиперхолестеринемии (см. главу 7).

## Цитоскелет

Благодаря *цитоскелету* клетки обладают целым рядом способностей — **сохранять определенную форму и полярность, образовывать внутриклеточные органеллы и передвигаться** (рис. 1.9). У эукариотов имеются три основных класса белков цитоскелета.

- *Актиновые микрофиламенты* — это фибриллы диаметром от 5 до 9 нм, образованные глобулярным белковым актином (G-актин) — основным белком микрофиламентов. В мономерной

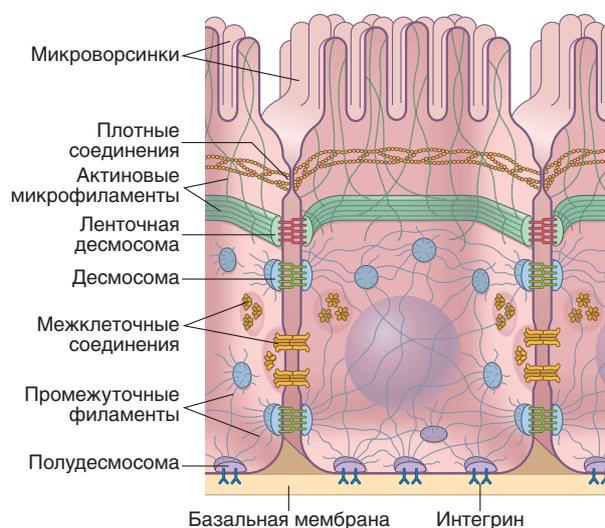


Рис. 19. Компоненты цитоскелета и межклеточные соединения. Внутриэпителиальная адгезия осуществляется посредством различных взаимодействий поверхностных белков, в том числе *плотных соединений* и *десмосом*. Адгезия к внеклеточному матриксу происходит с вовлечением клеточных интегринов (и связанных с ними белков) в *гемидесмосомах* (полудесмосома). Более подробное описание см. в тексте

форме G-актин содержит молекулу АТФ. При полимеризации G-актина образуются длинные тонкие нити F-актина, которые переплетаются и образуют двухцепочечные спирали. В мышечных клетках фибриллярный белок *миозин* при взаимодействии с актином образует комплекс, способный к сокращению при гидролизе АТФ (основа сокращения мышц). В неммышечных клетках с помощью актин-связывающего белка F-актина образуются пучки фибрилл и сеть, позволяющие осуществлять контроль за формой клеток и их подвижностью.

- *Промежуточные филаменты* — это нитевидные фибриллы диаметром 10 нм, представляют собой большое и разнообразное семейство. К промежуточным филаментам относятся *ламини А, В и С*, которые вносят вклад в поддержание формы ядра. Некоторые типы промежуточных филаментов имеют характерные особенности гистогенетической (гистогенез — тканевое происхождение. — *Примеч. ред.*) экспрессии, что позволяет определить тканевое и клеточное происхождение низкодифференцированных опухолей.
  - *Виментин*: белок мезенхимальных клеток (фибробласты, эндотелий), фиксирует внутриклеточные органеллы.
  - *Десмин*: белок мышечных клеток, образует структуры, с которыми образуют контакты актин и миозин.
  - *Нейрофиламенты*: белок аксонов нейронов, который придает им упругость и жесткость.
  - *Глиальные фибриллярный кислый белок*: белок глиальных клеток, сопровождающих нейроны.

- *Цитокератины*: эпителиальные клетки экспрессируют более 30 различных вариантов белков, отличающихся друг от друга формой экспрессии в разных линиях эпителия [например, легочный эпителий и эпителий желудочно-кишечного тракта (ЖКТ)]. Их можно использовать как гистохимические маркеры эпителия.

Промежуточные филаменты по форме напоминают веревку (полимеризованная форма), что позволяет повысить прочность клетки при растяжении, а клеткам выдержать механическое напряжение. Фибриллярные белки ядерной оболочки играют важную роль для сохранения структуры ядра и регуляции транскрипции генома, что подтверждается на примере редко встречающихся нарушений, связанных ламинных мутаций, которые могут проявляться от определенных форм мышечной дистрофии до прогерии (ускоренное старение). Промежуточные филаменты также образуют основные структурные белки эпидермиса и волос.

- *Микротрубочки* — это фибриллы толщиной 25 нм, состоящие из нековалентно полимеризованных димеров  $\alpha$ - и  $\beta$ -тубулина, расположенных в постоянно удлиняющихся или укорачивающихся полых трубочках с определенной полярностью; концы трубочек обычно обозначены как «+» или «-». Как правило, конец «-» включен в *центр организации микротрубочек (центросома)* вблизи ядра, где он связан с парными *центриолями*; конец «+» удлиняется или укорачивается в ответ на различные раздражители путем добавления либо отделения димеров тубулина. Микротрубочки вовлечены в выполнение нескольких важных функций клеток.
  - Поддерживают связи с «молекулярными моторными» белками, осуществляют внутриклеточный транспорт. *Кинезины* — это полярные филаменты с направленным движением от минус (-) конца к плюс (+) концу; тогда как *динеины* осуществляют транспорт в обратном направлении — от плюс (+) конца к минус (-) концу.
  - Осуществляют механическую поддержку при разделении сестринских хроматид во время митоза.
  - Составляют основу *первичных ресничек* — одиночных, неподвижных структур ядерных клетках, участвуют в регуляции пролиферации и дифференцировке.
  - Составляют основу подвижных ресничек (например, в бронхиальном эпителии) и жгутиков сперматозоида.

## Межклеточные взаимодействия

Клетки взаимодействуют друг с другом и посылают друг другу сигналы, формируя соединения, которые обеспечивают механические связи и позволяют поверхностным рецепторам распознавать лиганды на

**других клетках.** Выделяют три основных типа *клеточных соединений* (см. рис. 1.9).

- **Окклюдированные соединения** (*плотные контакты*) соединяют соседние клетки друг с другом, чтобы создать непрерывный барьер, который ограничивает перемещение ионов и других молекул между клетками. *Внешне* плотные контакты напоминают густую сеть макромолекулярных контактов между соседними клетками. Комплексы, участвующие в межклеточном взаимодействии, состоят из множества белков, включая *окклюдин* и *клаудин*. Плотные контакты — это высокопрочный барьер для растворимых веществ; кроме того, они поддерживают клеточную полярность, образуя границу между апикальным и базолатеральным доменами клеток. Немаловажно, что такие соединения (а также десмосомы, описанные ниже) являются динамическими структурами, которые могут подвергаться разборке для упрощения пролиферации эпителия или миграции клеток воспаления и вновь образовываться.
- **Якорные соединения** (*десмосомы*) прочно соединяют клетки и их внутриклеточные цитоскелеты с другими клетками или с внеклеточным матриксом. Существует несколько типов десмосом: пятнистые *десмосомы* представляют собой контакты между двумя клетками небольшого размера и напоминает «заклепку». *Гемидесмосомы* (или *полудесмосомы*) — это места соединения клеток с внеклеточным матриксом. Третий вид — ленточные десмосомы (или *опоясывающие*). Подобные контакты могут иметь вид широких полос, связывающих клетки между собой. Межклеточные десмосомальные соединения образуются с помощью гомотипического связывания трансмембранных гликопротеинов (*кадгеринов*).
- В пятнистых десмосомах кадгеринины связаны с внутриклеточными промежуточными филаментами, что способствует организации комплексов из сигнальных белков и рассеивать сигналы на большое число клеток.
- В ленточных десмосомах молекулы трансмембранной адгезии связаны с внутриклеточными актинными микрофиламентами, благодаря которым они влияют на изменение формы и/или подвижность клеток.
- В гемидесмосомах трансмембранные связывающие белки называются *интегринами*. Как и кадгеринины, они прикрепляются к внутриклеточным промежуточным филаментам и, таким образом, функционально связывают цитоскелет с эндоплазматической мембраной. *Фокальные адгезионные комплексы* — это крупные макромолекулярные комплексы, которые расположены в гемидесмосомах и включают белки, способные образовывать внутриклеточные сигналы в стрессовых ситуациях (кардиомиоциты — при сердечной патологии).

- **Коммуникационные соединения** (щелевидные контакты) осуществляют прохождение химических или электрических сигналов от одной клетки к другой. Соединения состоят из плоской плотной решетки с порами от 1,5 до 2 нм, называемыми коннексаонами, которые образованы гексамерами трансмембранных белков *коннексинов*. Эти поры позволяют пропускать ионы, нуклеотиды, сахара, аминокислоты, витамины и другие малые молекулы; проницаемость соединений значительно снижается при снижении внутриклеточного рН или повышении внутриклеточной концентрации кальция. Промежуточные соединения играют огромную роль в межклеточных связях. Например, щелевидные контакты в кардиомиоцитах: кальций проникает из клетки в клетку через щелевидные контакты, что позволяет миокарду функционировать как синцитий (ткань с неполным разграничением клеток), координируя сокращение сердца.

### Биосинтетический аппарат: эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи

**Структурные белки и ферменты клетки постоянно обновляются благодаря поддержанию равновесия между постоянным синтезом и внутриклеточной деградацией.** ЭР — это место синтеза всех трансмембранных белков и липидов, необходимых для сборки плазматической мембраны и клеточных органелл, включая сам ЭР. ЭР также является местом начального синтеза всех молекул, предназначенных для выведения из клетки. Строение ЭР напоминает сетчатый лабиринт, состоящий из сообщающихся между собой ветвящихся трубочек и мешочков, образующих замкнутую систему, которая сообщается с внеклеточной средой. ЭР состоит из областей, которые отличаются друг от друга по наличию в них рибосом и строению — шероховатый ЭР характеризуется наличием рибосом, гладкий ЭР — их отсутствием (см. рис. 1.6).

**Шероховатый ЭР:** мембраносвязанные рибосомы, расположенные на цитозольной поверхности шероховатого ЭР, транслируют матричную РНК в белки, которые транспортируются в просвет ЭР либо остаются внутри ЭР в виде мембранных белков. Этот процесс регулируется специфическими *сигнальными последовательностями* на N-концах синтезируемого белка. Белки встраиваются в изгибы ЭР и должны правильно свернуться, чтобы принять функциональную конформацию и образовывать более сложные комплексы. Правильное сворачивание внеклеточных доменов многих белков происходит с участием дисульфидных связей. Мутации становятся причиной нарушений формирования дисульфидных связей, что приводит к возникновению целого ряда наследственных заболеваний, в том числе многих случаев семейной

гиперхолестеринемии (см. главу 6). Кроме того, N-связанные олигосахариды (сахарные фрагменты, присоединенные к аспарагиновым остаткам) присоединяются к белку в ЭР. Молекулы шаперонов сохраняют связь с белками, находящимися в ЭР, до тех пор, пока молекулы белка не завершат все модификации и не будет достигнута соответствующая конформация. Если белок неспособен к фолдингу [фолдингом белка (укладка белка, от англ. folding) называют процесс спонтанного сворачивания полипептидной цепи в уникальную третичную структуру. — *Примеч. ред.*] или соответствующий комплекс не образуется, то белок подвергается разрушению внутри ЭР. Более того, при избыточном накоплении неправильно свернутых белков в случаях, превышающих возможности «редактирования» или разрушения таких белков в ЭР, возникает *стресс-реакция ЭР* (или *развернутый белковый ответ*), который вызывает гибель клеток путем *апоптоза* (см. главу 2).

Примером значимости функции редактирования белков в ЭР служит заболевание *кистозный фиброз* (*муковисцидоз*), который в большинстве случаев связан с мисфолдингом белка CFTR. При кистозном фиброзе наиболее распространенная мутация в гене *CFTR* приводит к потере одного аминокислотного остатка (фенилаланина 508), что в свою очередь вызывает мисфолдинг CFTR, задержку, а затем и деградацию его в ЭР. Потеря функции CFTR приводит к нарушению транспорта хлора в дыхательном эпителии, образованию вязкого бронхиального секрета и рецидивирующей инфекции дыхательных путей (см. главу 7).

*Аппарат Гольджи.* Белки и липиды из шероховатого ЭР, предназначенные для других органелл, а также продукты для выведения из клетки направляются в аппарат Гольджи. Аппарат Гольджи образован тесно прилежащими друг к другу цистернами, в которых происходит постепенная модификация белков; имеет отделы — *цис-отдел* (расположен около ЭР) и *трансоотдел* (находится вблизи плазматической мембраны). Макромолекулы перемещаются между цистернами внутри мембраносвязанных везикул. По мере перемещения молекул из *цис-отдела* в *трансоотдел* N-связанный олигосахарид, первоначально присоединенный к белкам в ЭР, обрезается и подвергается постепенной модификации. O-связанные олигосахариды (сахарные фрагменты, связанные с серином или треонином) также обрезаются. Гликозилирование белков и липидов в аппарате Гольджи имеет важное значение для направления молекул в лизосомы (через маннозо-6-фосфатный рецептор); другие продукты гликозилирования необходимы для взаимодействий клетками или клеток с внеклеточным матриксом либо для элиминации стареющих клеток (например, тромбоцитов и эритроцитов). Помимо гликозилирования липидов и белков, в *цис-отделе аппарата Гольджи* белки возвращаются обратно в ЭР, а в *трансоотделе аппарата Гольджи* белки и липиды направляются в дру-

гие органеллы (в том числе и цитоплазматическую мембрану) или в секреторные везикулы, предназначенные для выведения материала из клетки. Комплекс Гольджи наиболее развит в секреторных клетках, например бокаловидных клетках кишечника, бронхиальном эпителии (секретирующем большое количество богатого полисахаридами секрета) и плазматических секретирующих большие количества антител.

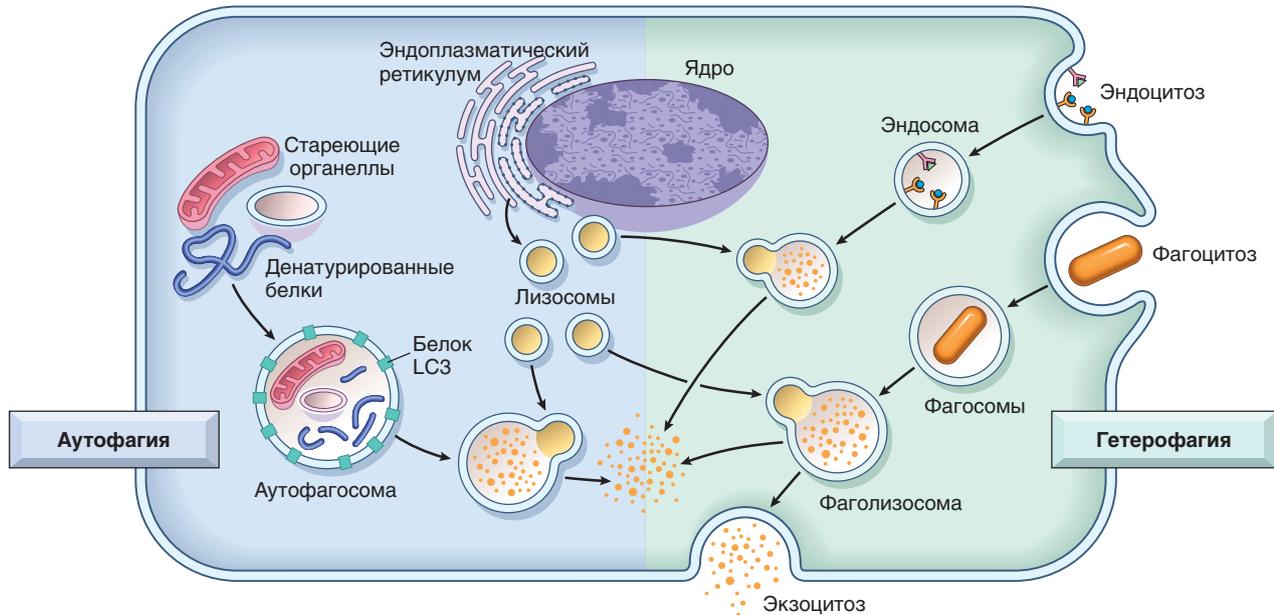
*Гладкий ЭР* в большинстве клеток может быть неодинаковым; мембранные элементы образуют переходную зону транспортных везикул, перемещающихся от шероховатого ЭР к аппарату Гольджи. Однако в клетках, синтезирующих стероидные гормоны (например, в гонадах и надпочечниках) или катаболизирующих липид-растворимые молекулы (например, в печени), гладкий ЭР особенно выражен. При воздействии различных вредных веществ, деградация которых происходит в гладком ЭР (например, метаболическая дезактивация фенобарбитала осуществляется системой цитохрома P-450), приводит к реактивной гиперплазии гладкого ЭР. Гладкий ЭР выполняет функцию депонирования внутриклеточного кальция; высвобождение ионов кальция из гладкого ЭР в цитозоль может опосредовать ряд ответов на внеклеточные сигналы. В поперечнополосатых мышцах специализированный гладкий ЭР (*саркоплазматический ретикулум*) отвечает за циклическое высвобождение и депонирование ионов кальция, которые регулируют сокращение и расслабление мышц.

### Утилизация продуктов жизнедеятельности клетки: лизосомы и протеасомы

Как было отмечено выше, **удаление продуктов жизнедеятельности клетки связано с активностью лизосом и протеасом** (рис. 1.10).

- *Лизосомы* — это связанные с мембранами органеллы, содержащие примерно 40 различных кислых гидролаз (то есть ферментов, которые лучше всего функционируют в кислой среде, pH ≤ 5), включая протеазы, нуклеазы, липазы, гликозидазы, фосфатазы и сульфатазы. Вначале лизосомальные ферменты синтезируются в ЭР, а затем присоединяют маннозу-6-фосфат (М6Р) в аппарате Гольджи. В дальнейшем М6Р-модифицированные белки доставляются везикулами трансоотдела аппарата Гольджи в лизосомы, которые экспрессируют рецепторы к М6Р. Другие макромолекулы, направляемые в лизосомы для разрушения, поступают в них тремя путями (см. рис. 1.10).
- При жидкофазном пиноцитозе и рецептор-опосредованном эндоцитозе поглощенные вещества с поверхности цитоплазматической мембраны заключаются в раннюю эндосому, далее — в позднюю эндосому и в конечном итоге — в лизосому, содержащее

## А Деграция материала с участием лизосом



## Б Деграция материала с участием протеасом

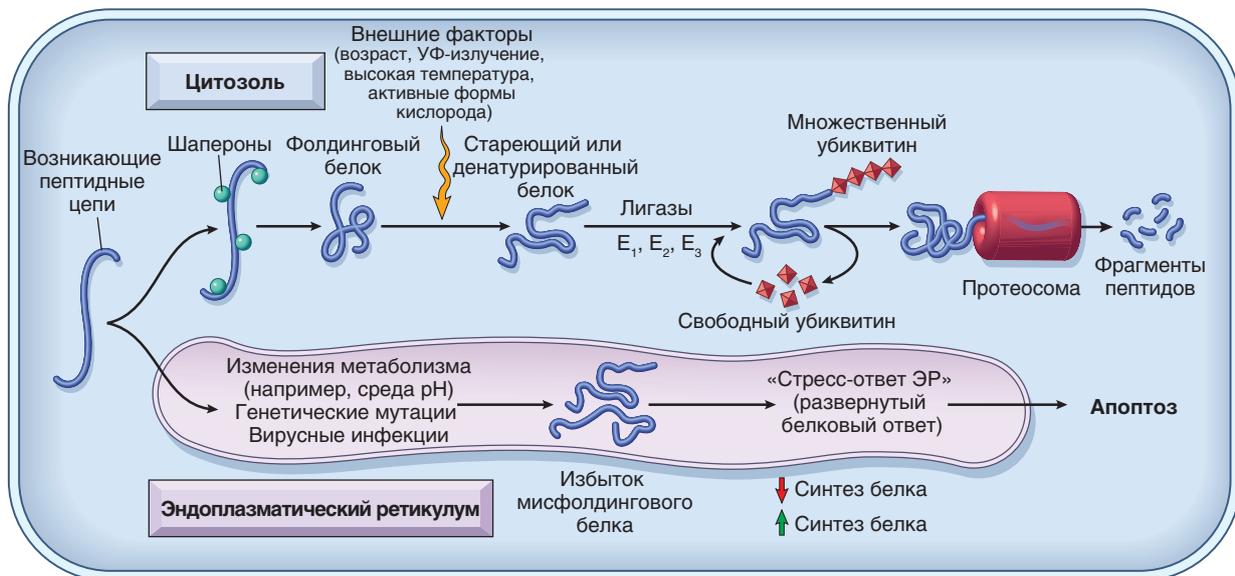


Рис. 1.10. Утилизация материала в клетке: А — деграция материала с участием лизосом. При *гетерофагии* (справа) лизосомы сливаются с эндосомами или фагосомами для утилизации их интернализованного содержимого (см. рис. 1.8). Конечные продукты могут поступать в цитоплазму для питания или выводиться за пределы клетки во внеклеточное пространство (*экзоцитоз*). При *аутофагии* (слева) для утилизации выявляются стареющие органеллы или денатурированные белки; процесс осуществляется в лизосомах — вокруг «ненужного» материала формируется двойная мембрана, которая образуется из эндоплазматического ретикула (ЭР), материал аутофагосом метится белками LC3 (белок, ассоциированный с микротрубочками IA/IB-легкая цепь 3). Аутофагоцитарный путь активируется при стрессе клетки, вызванном недостатком питательных веществ или некоторыми внутриклеточными инфекциями; Б — деграция материала с участием протеасом. Цитоплазматические белки (например, факторы транскрипции или регуляторные белки), стареющие белки или белки, подвергшиеся денатурации под действием внешних механических или химических факторов, метятся несколькими молекулами убиквитина (благодаря активности E1, E2 и E3 убиквитиновых лигаз). Такие меченные белки предназначены для утилизации протеасомами, они «разрезаются» молекулами убиквитина на мелкие пептидные фрагменты. Большинство белков после мисфолдинга в эндоплазматическом ретикулуме вызывают мисфолдинговый протеиновый ответ, что приводит к значительному сокращению синтеза белка и увеличению синтеза белков-шаперонов, которые участвуют в шаперонозависимом фолдинге. Если не срабатывает и этот механизм, для того чтобы справиться с мисфолдингом, включается процесс апоптоза

которых постепенно становится более кислым. Ранняя эндосома — это первая кислая среда, но серьезное переваривание начина-

ется только в поздней эндосоме благодаря протеолитическим ферментам; поздние эндосомы созревают в лизосомы.