

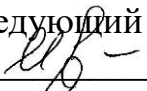
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ П.М. МАШЕРОВА»

Факультет химико-биологических и географических наук

Кафедра фундаментальной и прикладной биологии

СОГЛАСОВАНО

Заведующий кафедрой

 И.И. Ефременко
12.09.2024

СОГЛАСОВАНО

Декан факультета

 Т.А. Толкачёва
12.09.2024

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС
ПО УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ

ЦИТОЛОГИЯ И ГИСТОЛОГИЯ

для специальностей:

6-05-0511-03 Микробиология

6-05-0521-01 Экология

Составитель: Е.А. Держинский

Рассмотрено и утверждено

на заседании научно-методического совета 24.10.2024, протокол № 1

УДК 576.3+591.8+581.84(075.8)

ББК 28.05я73+28.066я73

Ц74

Печатается по решению научно-методического совета учреждения образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова». Протокол № 6 от 25.06.2024.

Составитель: доцент кафедры фундаментальной и прикладной биологии ВГУ имени П.М. Машерова, кандидат биологических наук, доцент **Е.А. Держинский**

Р е ц е н з е н т ы :

кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии УО «ВГМУ»;
декан факультета химико-биологических и географических наук
ВГУ имени П.М. Машерова, кандидат биологических наук,
доцент *Т.А. Толкачёва*

Цитология и гистология для специальностей: 6-05-0511-03
Ц74 Микробиология, 6-05-0521-01 Экология : учебно-методический
комплекс по учебной дисциплине / сост. Е.А. Держинский. –
Витебск : ВГУ имени П.М. Машерова, 2024. – 199 с.
ISBN 978-985-30-0179-2.

В учебно-методическом комплексе представлены лекционный курс, вопросы для подготовки к лабораторным занятиям, материалы для контроля знаний, вопросы к зачету и экзамену по учебной дисциплине «Цитология и гистология» для студентов специальностей «микробиология» и «экология». Данное издание также вызовет интерес у студентов других биологических специальностей, учителей биологии, школьников, абитуриентов.

УДК 576.3+591.8+581.84(075.8)

ББК 28.05я73+28.066я73

ISBN 978-985-30-0179-2

© ВГУ имени П.М. Машерова, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА	5
ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	7
Модуль 1	7
Лекция 1. Введение в цитологию и гистологию	7
Лекция 2. Методы цитологии и гистологии	13
Лекция 3. Общие закономерности строения и жизнедеятельности клеток	27
Лекция 4. Наружная цитоплазматическая мембрана и ее производные	29
Лекция 5. Цитоплазма и мембранная система клетки	40
Лекция 6. Митохондрии и пластиды	47
Лекция 7. Немембранные органеллы общего назначения	54
Лекция 8. Органеллы специального назначения	68
Лекция 9. Непостоянные включения в клетке	71
Лекция 10. Клеточное ядро	73
Лекция 11. Уровни структурной организации хроматина. Хромосомы	80
Модуль 2	87
Лекция 12. Клеточный цикл и его регуляция	87
Лекция 13. Деление соматических клеток	91
Лекция 14. Мейоз. Образование половых клеток	95
Лекция 15. Дифференциация клеток	103
Лекция 16. Физиология клетки	108
Лекция 17. Старение и смерть клеток	113
Модуль 3	120
Лекция 18. Понятие о тканях. Общая характеристика эпителиальных тканей	120
Лекция 19. Функциональные типы эпителиев	123
Лекция 20. Ткани внутренней среды. Собственно-соединительная ткань	135
Лекция 21. Хрящевая ткань	141
Лекция 22. Костная ткань	143
Лекция 23. Кровь и лимфа	147
Лекция 24. Мышечные ткани	157
Лекция 25. Нервная ткань	163
ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ	172
Модуль 1	172
Лабораторная работа № 1	172
Лабораторная работа № 2	172

Лабораторная работа № 3	173
Лабораторная работа № 4	173
Лабораторная работа № 5	173
Лабораторная работа № 6	174
Лабораторная работа № 7	174
Модуль 2	175
Лабораторная работа № 8	175
Лабораторная работа № 9	175
Модуль 3	176
Лабораторная работа № 10	176
Лабораторная работа № 11	176
Лабораторная работа № 12	176
Лабораторная работа № 13	177
Лабораторная работа № 14	177
Лабораторная работа № 15	177
РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ	178
Тесты для самоконтроля	178
Итоговый контроль. Вопросы к зачету (для специальности 6-05-0521-01 Экология)	192
Вопросы к экзамену (для специальности 6-05-0511-03 Микробиология)	195
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ	198
Рекомендуемая литература	198

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная дисциплина входит в учебный модуль «Основы биологии» государственного компонента учебного плана специальности «Микробиология» и учебный модуль «Биология человека» компонента учреждения высшего образования учебного плана специальности «Экология».

Цель преподавания учебной дисциплины: формирование у студентов целостного представления об организации и функционировании клеток и их ансамблей, или тканей.

Задачи изучения учебной дисциплины:

- 1) сформировать целостное представление о структурно-функциональной организации клеток эукариот;
- 2) изучить механизмы, лежащие в основе клеточного цикла и его регуляции, деления клеток и их генетически детерминированной гибели;
- 3) выяснить принципы дифференцировки клеток как процесса их функциональной специализации в многоклеточном организме;
- 4) изучить разнообразие, организацию, свойства и функциональную активность основных тканей животных и человека, закономерности их гистогенеза и регенерации.

Представленный учебно-методический комплекс включает теоретический материал с контрольными вопросами, перечень лабораторных занятий и вопросов к ним, тесты для самоконтроля, вопросы к зачету и экзамену по дисциплине «Цитология и гистология», список литературы. В разделе «Цитология» рассматриваются история развития цитологии и гистологии, основные методы исследований, применяемые этими науками, а также общие закономерности строения, функций, развития, регенераторных и реактивных свойств клеток и тканей. Приведены сведения о митотическом и жизненном циклах клеток, их регуляции и регуляции численности клеточных популяций, молекулах клеточной адгезии. Подробно освещается апоптоз как форма клеточной гибели, его значение в тканевом гомеостазе и механизмы регуляции этого процесса. В разделе «Учение о тканях» рассматриваются вопросы строения, происхождения, развития и значения тканей животного организма.

Структура учебно-методического комплекса построена на основании учебной программы дисциплины. При возрастающей роли самостоятельной работы учебное издание направлено на формирование у студентов ясной системы знаний о строении, функциях и регуляции жизнедеятельности клетки как основной структурной и функциональной единицы строения живых организмов.

Освоение учебной дисциплины должно обеспечить формирование следующих компетенций:

– для специальности «Микробиология»: БПК – обладать способностью анализировать структурно-функциональную организацию клеток, тканей растений и животных, систем органов человека, особенностей жиз-

недеятельности представителей разных таксономических групп растительного и животного мира;

– для специальности «Экология»: СК-7 – учитывать особенности строения организма человека и его физиологических процессов, осуществлять оценку физиологических состояний и патологических процессов в организме человека.

В результате изучения учебной дисциплины студент должен **знать:**

– принципы структурно-функциональной организации клеток животных и растений;

– 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;

– 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;

иметь навык:

– работы со световым микроскопом;

– фиксации и окраски препаратов;

– визуализации клеточных органелл.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

МОДУЛЬ 1

Лекция 1. ВВЕДЕНИЕ В ЦИТОЛОГИЮ И ГИСТОЛОГИЮ

1. Предмет цитологии и гистологии, их место в системе биологических наук.
2. Краткая история развития цитологии и гистологии.
3. Клеточная теория.

1. Предмет цитологии и гистологии, их место в системе биологических наук.

Цитология – это наука о клетке. Она изучает строение и функции клеток и их компонентов, происхождение, онтогенез, воспроизведение, приспособления клеток к условиям среды. В англоязычной литературе этот раздел биологии чаще называется *cell biology*, что в переводе означает «клеточная биология» или «биология клетки». В многоклеточных организмах клетки формируют ткани. Изучением тканей животного организма занимается наука **гистология**.

Предметом изучения цитологии является клетка. Теоретической основой науки служит клеточная теория. Основным методом исследования в цитологии – микроскопия.

Место цитологии в системе биологических наук определяется тем, что клетка представляет собой элементарную структурную и функциональную единицу подавляющего большинства живых организмов, за исключением вирусов. Впрочем, и сам вопрос о том, можно ли считать вирусы живыми, до настоящего времени не имеет окончательного ответа.

Фундаментальные различия между основными группами живых организмов лежат в строении их клеток. Поэтому цитология тесно связана с *зоологией, ботаникой, микологией*. Строение клеток и их компонентов определяется происходящими в них процессами, для понимания которых необходимо взаимодействие с *биохимией, биофизикой, молекулярной биологией, иммунологией*. Знание особенностей строения различных клеток лежит в основе учения о тканях – *гистологии*. Также эти сведения необходимы для изучения строения и функционирования различных органов в *анатомии и физиологии*. Цитология изучает индивидуальное развитие клеток, их изменения в связи с выполняемыми функциями, что связывает эту науку с *эмбриологией и биологией развития*.

Результаты цитологических исследований широко используются в медицине. Цитологические методы исследования применяются в онкологии, патологической анатомии, гематологии, судебной медицине, микробиологии. С их помощью изучается цитотоксичность лекарственных пре-

паратов и их лечебные свойства. На основе цитологии развивается изучение стволовых клеток. Также цитология имеет важное значение для ветеринарии, сельского хозяйства, биотехнологии, пищевой и парфюмерной промышленности и других областей человеческой деятельности.

2. Краткая история развития цитологии и гистологии.

Возникновение цитологии и гистологии связано с изобретением микроскопа в конце XVI – начале XVII века. В своем становлении и развитии цитология и гистология были тесно связаны между собой. Среди создателей первых моделей микроскопов упоминаются оптический мастер Захария Янсен (Нидерланды, 1590 г.), Галилео Галилей (Италия, 1609 г.), изобретатель голландского происхождения Корнелиус Дреббель (Великобритания, 1619 г.).

Впервые клетки были описаны Робертом Гуком (Великобритания) в его книге «Микрография», опубликованной в 1665 г. Рассматривая под микроскопом срез пробки, он обнаружил, что те состоят из однотипных ячеек. Гук дал им название *cellula*, от которого происходит и современный термин «клетка».

Позднее клеточное строение растений подтвердили в своих работах итальянский биолог и врач Марчелло Мальпиги («*Anatomia Plantarum*», 1675–1679 гг.) и английский ботаник и врач Неемия Грю («*The Anatomy of Plants*», 1682 г.). Последний также впервые использовал термин «**ткань**» в описании строения органов растений, подчеркивая аналогию с нитями, образующими текстильное полотно.

В период с 1673 по 1723 гг. нидерландский натуралист Антони ван Лёвенгук, пользуясь микроскопами собственного изготовления, открыл и описал в письмах Лондонскому королевскому обществу клетки бактерий, простейших, дрожжей, эритроциты, сперматозоиды и многие другие клетки.

В XVIII веке совершенствовались конструкции микроскопа и продолжались микроскопические исследования. В 1757 г. английский оптик Джон Доллонд разработал способ создания ахроматических линз путем сочетания двух типов оптического стекла с разными показателями преломления – кроны и флинта. Использование таких линз в объективах микроскопов позволило значительно уменьшить искажения изображения. Швейцарским зоологом Авраамом Трамбле в 1744 г. было открыто явление регенерации у гидры. Немецкий и российский анатом и физиолог Каспар Фридрих Вольф опираясь на результаты микроскопических наблюдений, выступил с научным обоснованием учения об эпигенезе – постепенном развитии зародыша из прочного зачатка (1759 г.), опровергнув господствовавшую теорию преформизма, согласно которой в половых клетках с самого начала развития находится уже сформированный зародыш, а дальнейшее его развитие сводится к увеличению в размерах и уплотнению прозрачных, ранее невидимых тканей. В 1783 г. российский врач Александр Шумлянский в своей диссертации «О строении почек» впервые описал извитой каналец, капсулу почки, сосудистый клубочек.

В начале XIX века французский анатом и физиолог Мари́ Франсуа́ Ксавье́ Биша́ сформулировал представление о тканях как элементарных составных частях организма в книге «Общая анатомия в приложении к физиологии и медицине» (1801 г.). К этому же периоду относятся работы французского ботаника Шарля-Франсуа Бриссо де Мирбеля, посвященные растительным клеткам и тканям (1802–1815 гг.). Позднее, опираясь на идею Биша, немецкий анатом Карл Майер в работе «О гистологии и новой классификации тканей человеческого организма» (1819 г.) ввел название для науки о тканях. Немецкий врач и естествоиспытатель Карл Гейзингер в своем труде «Система гистологии» (1822 г.) определил предмет и задачи новой науки. Окончательно гистология оформилась как наука к середине XIX века в трудах швейцарского зоолога, гистолога и эмбриолога Альберта Кёлликера «Гистология или учение о тканях человека» (1852 г.) и германского зоолога и гистолога Франца Лейдига «Гистология человека и животных» (1857 г.).

В 1825 г. чешский ученый Ян Пуркине описал ядро в яйцеклетке птиц. В 1827 г. российский ученый немецкого происхождения Карл Бэр открыл яйцеклетку млекопитающих и показал, что все многоклеточные организмы начинают развитие из одной клетки.

В 1831 г. английский ботаник Роберт Броун описал ядро в клетках растений.

В 1839 г. была опубликована книга немецкого ученого Теодора Шванна «Микроскопические исследования о соответствии в структуре и росте животных и растений», в которой была сформулирована клеточная теория строения живых организмов. Большое влияние на ее создание оказали исследования роли ядра в растительной клетке, опубликованные немецким ботаником Маттиасом Шлейденом, которого по этой причине часто называют соавтором клеточной теории. Однако, Шванн, как и Шлейден, считал, что клетки могут возникать не только в результате деления, но и путем образования из бесструктурного вещества внутри клетки. Представление о том, что клетки образуются только путем деления, окончательно утвердилось в науке только после издания в 1858 г. книги немецкого ученого Рудольфа Вирхова «Клеточная патология, основанная на физиологическом и патологическом учении о тканях». В ней эта идея была сформулирована в виде афоризма **«*omnis cellula ex cellula*»** – каждая клетка из клетки.

Развитию клеточной теории способствовало открытие протоплазмы и подтверждение клеточного строения простейших. Впервые для обозначения вещества животных клеток термин «протоплазма» ввел в 1839 г. Я. Пуркине. Вскоре, в 1846 г., немецкий ботаник Гуго Моль использовал его для описания содержимого клеток растений и объяснения наблюдаемого в них движения. В результате исследований Альберта Кёлликера, Феликса Дюжардена, Карла Зибольда, Макса Шульце к середине XIX в. было окончательно доказано, что тела простейших состоят из одной клетки.

В 1861 г. германский врач и физиолог Эрнст Брюкке в своей работе «Элементарные организмы» высказал идею, кажущуюся в наше время очевидной: *поскольку клетка рассматривается как автономная система, которая обладает всеми свойствами живого, она должна иметь сложное строение*. Она имела важное значение для развития клеточной теории, поскольку ранее клетка считалась довольно просто устроенным универсальным элементом структуры ткани.

Идея о том, что клетка может обладать свойствами самостоятельного организма имело принципиальное значение для дальнейших исследований. Это проявилось в работе бельгийского ученого Жана Батиста Карнуа «Биология клетки» (1884 г.). В ней он обосновал выделение **цитологии** в качестве самостоятельной науки, предметом изучения которой служит клетка.

В 1875 г. германский ботаник польского происхождения Эдуард Страсбургер впервые описал изменения ядра при делении клетки в книге «О клеткообразовании и клеточном делении». Его работа пробудила интерес других исследователей к делению клеток и в последующие годы был опубликован ряд работ, посвященных этому процессу. В 1882 г. была опубликована книга германского биолога Вальтера Флемминга «Клеточная субстанция, ядро и клеточное деление». В ней дано описание строения ядра и цитоплазмы, вводятся понятия о прямом (амитоз) и непрямом (кариокинез) делении ядер, подробно описывается процесс митоза. В 1885 г. австрийский эмбриолог и анатом Карл Рабль в работе «О клеточном делении» продемонстрировал, что клубок, описанный Флеммингом в профазе митоза, состоит из отдельных нитей, число которых характерно для каждого вида организмов. В 1888 г. немецкий анатом и гистолог Генрих Вальдэйер в своей работе «О кариокинезе и его отношении к явлениям оплодотворения» дал им название – хромосомы.

Способ деления ядра яйцеклетки на стадии созревания, позднее названный мейозом, впервые исследовали Эдуард ван Бенеден, Теодор Бовери и Оскар Гертвиг. В 1875 г. была опубликована работа Гертвига «Материалы к познанию образования, оплодотворения и деления животного яйца», имевшая наибольшее значение. В ней автор описал слияние мужского и женского пронуклеусов в единое ядро зиготы. Гипотезу о том, что ядро служит носителем наследственности в клетке, предложили независимо друг от друга в 1884 г. Гертвиг и Страсбургер. К этому же периоду относится открытие центросом на полюсах делящихся клеток. В середине 70-х годов XIX в. их почти одновременно описали В. Флемминг, О. Гертвиг и Э. ван Бенеден.

В 1890 г. германский анатом и гистолог Рихард Альтман предположил, что каждая клетка содержит особые микроорганизмы, способные к самостоятельному размножению, – биобласты. Позже Карл Бенда дал им название «митохондрии», а Фридрих Мевес впервые описал их в клетках растений. В 1898 г. Камилло Гольджи открыл в клетках нервной ткани пластинчатый комплекс.

Микроскопические исследования внутренней структуры клетки стимулировали развитие оптической техники. Пределы разрешающей способности микроскопа были рассмотрены в работе германского физика и физиолога Германа Гельмгольца «Теоретическая граница способности микроскопа» в 1874 г. В работах другого германского физика Эрнста Аббе был подробно исследован процесс создания изображения в микроскопе. По его расчетам в 1886 г. компанией Цейс в Йене были созданы апохроматические объективы, разрешающая способность которых составляла 0,25 мкм за счет исправления хроматической и сферической аберраций.

В этот период совершенствовались и методы изготовления препаратов. Ранее исследователи наблюдали в микроскоп неокрашенные живые клетки. Теперь распространение получили сложные фиксирующие смеси, позволяющие сохранять структуру цитоплазмы и ядра. Так, Вальтером Флемингом был создан фиксатор из смеси хромовой, осмиевой и уксусной кислот. Также проводились опыты с новыми красителями. Кроме природных кармина и гематоксилина, для окрашивания препаратов начали применять синтетические анилиновые красители эозин, кислый и основной фуксины, метиленовый синий, индигокармин и другие. Широкую популярность получил способ окрашивания железным гематоксилином, предложенный германским физиологом и гистологом Рудольфом Гейденгайном.

В конце XIX века были опубликованы фундаментальные работы Оскара Гёртвига «Клетка и ткани» (1892 г.) и Эдмунда Уйлсона «Клетка в развитии и наследственности» (1896 г.), которые свидетельствовали об утверждении цитологии в качестве самостоятельной науки.

В начале XX века возникла цитогенетика – наука, изучающая закономерности наследственности на уровне клетки и внутриклеточных структур, главным образом – хромосом. Работы Уолтера Саттона и Теодора Бóвери в 1902–1903 гг. показали параллелизм в поведении хромосом при мейозе и менделевских факторов наследственности. Это заложило основу хромосомной теории наследственности, которую в дальнейшем экспериментально обосновала исследовательская группа Томаса Ханта Моргана в книге «Механизм менделевской наследственности» (1915 г.). Еще в 1898 г. российский ученый Сергей Гаврилович Нава́шин открыл двойное оплодотворение у покрытосеменных растений. Он же предложил морфологическую классификацию хромосом в зависимости от расположения центромеры.

В 1903 г. австрийским химиком Рихардом Зигмонди и германским физиком Генри Зидентопфом был создан ультрамикроскоп, позволявший подсчитывать взвешенные частицы с наименьшим размером 20–30 нм. Сейчас этот метод является разновидностью темнопольной микроскопии. В тот же год германскими физиками Августом Кёлером и Морицем фон Рором была разработана схема ультрафиолетового микроскопа, а в 1908 г. был создан действующий люминесцентный микроскоп. Использование ультрафиолетового излучения позволило приблизительно в два раза повысить разрешающую способность в сравнении с обычным микроскопом.

В 1931 г. Эрнст Руска и Макс Кноллъ создали первый просвечивающий электронный микроскоп. Совершенствование его конструкции позволило фирме Siemens выпустить в 1939 г. первую серийную модель, которая имела разрешающую способность 10 нм. Другим важным изобретением, имевшим важное значение для развития цитологии, стала ультрацентрифуга. Впервые она была создана шведским физиком и химиком Теодором Свэдбергом в 1926 г. Применение этого устройства позволило разделять на фракции, которые далее исследовались в электронном микроскопе, макромолекулы и субклеточные частицы. Так были открыты рибосомы, лизосомы, нуклеосомы и другие частицы, изучено строение ядра клетки, биологических мембран, хлоропластов, митохондрий, центриолей, жгутиков и ресничек, комплекса Гольджи, миофибрилл и других органелл.

В 1961 г. японский химик Осаму Симомура получил из медузы *Aequorea victoria* зеленый флуоресцентный белок (GFP) и изучил его свойства. В 1994 г. американский нейробиолог Мартин Чалфи внедрил ген этого белка в клетки бактерии кишечной палочки *Escherichia coli* и почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*. Это открыло возможность использования GFP в качестве светящейся метки для изучения экспрессии генов.

В последнее время наметилось некоторое снижение значения электронной микроскопии в изучении клеток, поскольку этим методом можно изучать только фиксированный материал. Возможной альтернативой представляется световая микроскопия высокого разрешения, методы которой в настоящее время быстро развиваются.

3. Клеточная теория в настоящее время включает в себя следующие положения:

1) Клетка как элементарная живая система, способная к самообновлению, саморегуляции и самовоспроизведению, лежит в основе строения и развития всех живых организмов.

2) Клетки всех организмов построены по единому принципу, сходны по химическому составу, основным проявлениям жизнедеятельности и обмену веществ.

3) Размножение клеток происходит путем их деления, и каждая новая клетка образуется в результате деления материнской клетки.

4) В многоклеточных организмах клетки специализированы по выполняемым функциям и образуют ткани. Из тканей состоят органы и системы органов, которые тесно связаны между собой.

Контрольные вопросы

1. Что служит теоретической основой цитологии?
2. С какими биологическими дисциплинами связана цитология?
3. Кем и когда были созданы первые микроскопы?
4. Кто и когда впервые предложил термины «клетка» и «ткань»?
5. Кем и когда было открыто ядро в клетках растений и животных?
6. Кто и когда впервые сформулировал клеточную теорию? Каковы её современные положения?
7. Кем и когда впервые был создан электронный микроскоп?

Лекция 2. МЕТОДЫ ЦИТОЛОГИИ И ГИСТОЛОГИИ

- 1 Микроскопия.
2. Изготовление препаратов для световой микроскопии.
3. Методы подготовки препаратов для электронной микроскопии.
4. Цито- и гистохимические методы.
5. Методы исследования живых клеток и тканей.
6. Радиоавтография.
7. Фракционирование клеток.

Современные методы, применяемые в цитологии и гистологии, можно для удобства разделить на несколько групп.

1 Микроскопия. Представляет собой изучение объектов при помощи микроскопа – оптического прибора, предназначенного для получения увеличенных изображений объектов или деталей структуры, невидимых или плохо видимых невооружённым глазом.

1.1 Световая микроскопия (микроскопия в светлом поле). Используется при изучении препаратов в проходящем свете видимой части спектра. Эти препараты должны быть тонкими, прозрачными и контрастными. Линзы конденсора фокусируют проходящий через них свет. Затем пучок света проходит через препарат, линзы объектива, окуляра и, наконец, воспринимается глазом. Основные характеристики микроскопа – это общее увеличение и разрешающая способность. **Общее увеличение** характеризует соотношение между действительными размерами объекта и размерами изображения, формируемого микроскопом. Его можно вычислить как произведение увеличений объектива и окуляра. В современных микроскопах его значение достигает 1500–2500. **Разрешающая способность** – это минимальное расстояние между двумя точками, на котором они видны раздельно. Она прямо пропорциональна плотности среды, численной апертуре объектива и обратно пропорциональна длине световой волны. Следовательно, разрешающую способность микроскопа можно повысить, используя прозрачную жидкую среду, у которой показатель преломления > 1 . Так, у воды он равен 1.33, у глицерина 1.46, у иммерсионного масла 1.53.

Численная апертура может достигать у иммерсионных объективов значения 1.4. При этом важное значение имеет когерентность световых волн, идущих от осветителя. Для ее увеличения Э. Аббе был разработан конденсор – оптическое приспособление, которое располагается между источником света и препаратом и согласует апертуру объектива с апертурой источника света.

Правила работы с микроскопом

При работе с микроскопом необходимо выполнять действия в следующем порядке:

1. Работать с микроскопом следует сидя.
2. Перед началом работы микроскоп нужно осмотреть, при необходимости протереть от пыли мягкой салфеткой объективы, окуляр, зеркало или электроосветитель;
3. Микроскоп установить на столе перед собой, немного слева на 2–3 см от края стола. Во время работы его не сдвигать;
4. Открыть полностью диафрагму, поднять конденсор в крайнее верхнее положение;
5. Работу с микроскопом всегда начинать с малого увеличения.
6. Опустить объектив на расстояние 1 см от предметного стекла.
7. Установить освещение в поле зрения микроскопа, используя электроосветитель или зеркало. Глядя одним глазом в окуляр и пользуясь зеркалом с вогнутой стороной, направить свет от окна в объектив, а затем максимально и равномерно осветить поле зрения. Если микроскоп снабжен осветителем, то подсоединить микроскоп к источнику питания, включить лампу и установить необходимую яркость горения.
8. Положить микропрепарат на предметный столик так, чтобы изучаемый объект находился под объективом. Глядя сбоку, опускать объектив при помощи макровинта до тех пор, пока расстояние между нижней линзой объектива и микропрепаратом не станет 4–5 мм.
9. Глядя одним глазом в окуляр вращать винт грубой наводки на себя, плавно поднимая объектив до положения, при котором хорошо будет видно изображение объекта. *Нельзя смотреть в окуляр и опускать объектив.* Фронтальная линза может раздавить покровное стекло, и на ней появятся царапины.
10. Передвигая препарат на предметном столике, найти нужное место, расположить его в центре поля зрения микроскопа.
11. Если изображение не появилось, повторить все операции пунктов 6, 7, 8, 9.
12. Для изучения объекта при большом увеличении, сначала нужно поставить выбранный участок в центр поля зрения микроскопа при малом увеличении. Затем сменить объектив, вращением револьверного устройства. При помощи микрометрического винта добиться хорошего изображения объекта. На коробке микрометрического механизма имеются

две риски, а на микрометричном винте – точка, которая должна все время находиться между рисками. Если она выходит за их пределы, ее необходимо вернуть в нормальное положение. При несоблюдении этого правила, микрометричный винт может перестать действовать.

13. По окончании работы с большим увеличением, установить малое увеличение, поднять объектив, снять с рабочего столика препарат, протереть чистой салфеткой все части микроскопа, накрыть его полиэтиленовым пакетом и поставить в шкаф.

1.2 Темнопольная микроскопия. Используется для повышения контраста изображения, не увеличивая разрешающую способность микроскопа. Основы метода разработаны Р. Зигмонди в начале XX в. Препарат освещается краевыми лучами, поскольку специальная кольцевая диафрагма, встроенная в конденсор, не пропускает центральную часть светового пучка осветителя. Поле зрения выглядит темным, видны оказываются только те структуры, которые рассеивают краевые лучи. Метод имеет преимущества при изучении живых и неокрашенных биологических образцов. В частности, в медицине используется для обнаружения плохо окрашиваемых бледных трепонем – возбудителей сифилиса, изучения кристаллов в моче.

1.3 Фазово-контрастная микроскопия. Метод основан на визуализации фазовых отклонений световой волны, которые не воспринимаются человеческим глазом, и превращении их в изменение амплитуды, т.е. яркости. Метод разработан голландским физиком Фрицем Цернике в 1930-х гг. Основное его преимущество состоит в том, что он позволяет добиться высокой контрастности и детализации строения живых клеток и тканей без их фиксации и окрашивания. Он основан на том, что из четырех основных характеристик световой волны – частоты, амплитуды, поляризации и фазы – зрение человека воспринимает только первые две в виде цвета и яркости. *Амплитудными* называются объекты, изменяющие интенсивность света, а *фазовыми* – изменяющими фазу световой волны. Большинство неокрашенных клеток и тканей относится ко второй группе. В настоящее время существует несколько способов реализации этого метода. Один из них заключается в установке над апертурной диафрагмой в конденсоре специальной кольцевой диафрагмы, которая представляет собой круглую стеклянную пластинку с прозрачным кольцом для освещения препарата. В задней фокальной плоскости объектива устанавливается фазовый фильтр в виде тонкого полупрозрачного кольца, «ускоряющего» прямой свет относительно рассеянного на одну четверть длины волны. Метод широко применяется при изучении клеток протистов и других одноклеточных организмов, для диагностики бактериальных инфекций, контроля роста клеточных культур. Его недостатки: ограничение по толщине препарата, несколько меньшее, по сравнению со светлыми и темнопольными методами, разрешение и появление светлой каймы вокруг объектов.

1.4 Дифференциальная интерференционно-контрастная микроскопия. Как и предыдущий метод, основана на разделении и сложении световых волн, но управление фазой происходит при помощи призмы Волласто-на, модифицированной французским оптиком Ж. Номарским. Призма склеена из двух клиньев двулучепреломляющих кристаллов, обычно кварца или кальцита. В конструкции микроскопа, где прозрачный препарат освещается снизу, используются две призмы. Свет сначала проходит через коллиматорную линзу, которая формирует пучок параллельных лучей. Далее, пройдя через поляризационный фильтр, лучи попадают на первую призму. Здесь свет разделяется на два пучка, плоскости поляризации которых взаимно ортогональны. Затем пучки фокусируются собирающей линзой таким образом, что попадают на препарат в двух соседних точках, расположенных на расстоянии около 0.2 мкм друг от друга. Два луча проходят разными оптическими путями, на которых исследуемый образец может отличаться по толщине и показателю преломления. В результате фаза одного луча относительно другого изменяется. Далее оба луча попадают на вторую призму, которая объединяет их. Это приводит к интерференции. Затем объединенный луч проходит через полупрозрачное зеркало, поляризационный фильтр и тубусную линзу, где формируется наблюдаемое изображение. Преимущества этого метода в сравнении с фазово-контрастной микроскопией заключаются в более высоком разрешении, которое сравнимо с таковым для светлой- и темнопольной микроскопии, значительно более тонкой светлой каймой вокруг объектов, а также в рельефности изображения.

1.5 Ультрафиолетовая микроскопия. Впервые ультрафиолетовый микроскоп сконструирован А. Кёлером и М. фон Рором в 1903 г. Отличия от обычного светового микроскопа состоят в характере освещения, оптике и способе регистрации изображения. Использование ультрафиолетового излучения с меньшей длиной волны, чем у видимого света, позволило значительно увеличить разрешение микроскопа. Еще одним преимуществом метода оказалось избирательное поглощение клетками ультрафиолетового света, что делало их хорошо различимыми без окрашивания. Линзы такого микроскопа изготавливались из кварцевого стекла, которое пропускает коротковолновое излучение. Полученное изображение фиксировалось на фотопластинках. В настоящее время этот метод используется нечасто.

1.6 Флуоресцентная микроскопия. Метод представляет собой модификацию ультрафиолетовой микроскопии. Впервые флуоресцентный микроскоп создан в 1911 г. германскими оптиками Оскаром Хеймштадтом и Генрихом Леманом. *Люминесценция* — это нетепловое свечение вещества, происходящее после поглощения им энергии возбуждения, длительность которого превышает период излучаемой световой волны. В зависимости от длительности она подразделяется на *флуоресценцию*, при которой возбужденное состояние длится $10^{-9} - 10^{-6}$ с, и *фосфоресценцию* с длительностью возбужденного состояния $10^{-3} - 10^{-2}$ с. *Аутофлуоресценция* (первичная флуоресценция) представляет собой собственную флуоресценцию

объектов. Примерами могут служить голубое свечение стенок клеток растений и бактерий при возбуждении ультрафиолетовым излучением и красное свечение хлорофилла. Любая клетка живых организмов способна к флуоресценции, но в большинстве случаев это свечение крайне слабо. Поэтому широкое распространение получили флуоресцирующие красители – *флуорохромы*, которые позволяют визуализировать внутреннее строение клетки, создавая *вторичную флуоресценцию*. В молекулярной биологии большое значение имеет бромид этидия – специфический для ДНК флуорохром. При возбуждении ультрафиолетом или зеленым светом он флуоресцирует красным. В 1942 г. английским микробиологом Альбертом Кунсом был разработан *метод меченых антител (иммунофлуоресцентный анализ)*, который в настоящее время широко используется в биологических исследованиях и медицине при ранней диагностике и лечении онкологических заболеваний, диагностике инфекционных заболеваний. Он основан на избирательном связывании специфическими антителами, несущими флуоресцентную метку, определенных молекул и последующей визуализации при помощи флуоресцентного микроскопа.

1.7 Конфокальная микроскопия (конфокальная лазерная сканирующая микроскопия). Метод объединяет новейшие достижения оптики, лазерной техники, микроэлектроники и программного обеспечения. Он позволяет получать серии послойных снимков на различных глубинах фокальной плоскости внутри объекта – оптических срезов, и создавать его трехмерное изображение. По сравнению с традиционной световой микроскопией изображение получается более контрастным и резким, несмотря на сопоставимое разрешение. Основным элементом конструкции служит точечная диафрагма, расположенная в задней фокальной плоскости объектива. Она ограничивает поток рассеянного света, идущего из-за пределов фокальной плоскости. Проходящий через диафрагму свет улавливается детектором, а изображение визуализируется на мониторе компьютера. Источник освещения расположен сбоку от объектива. При помощи специального зеркала световой поток направляется на препарат через объектив. Наиболее распространенная конструкция основана на флуоресцентном микроскопе с лазерной сканирующей головкой. Лазерный луч проходит от источника через объектив и возбуждает флуоресценцию лишь небольшого освещаемого участка образца, в отличие от обычного флуоресцентного микроскопа, где равномерно освещается весь образец. Для создания двухмерного или трехмерного изображения луч перемещается в горизонтальной и вертикальной плоскости. Метод широко применяется в различных областях биологии и в медицине, позволяет исследовать как фиксированные, так и живые объекты.

1.8 Рентгеновская микроскопия. Основана на использовании рентгеновского излучения для изучения микроскопического строения объектов. Благодаря малой длине волны рентгеновские лучи проникают в образец на значительно большую глубину по сравнению с видимым светом. Это поз-

воляет работать с препаратами большей толщины, а также с непрозрачными для видимого света объектами. Современные рентгеновские микроскопы имеют предел разрешающей способности около нескольких десятков нанометров, занимая по этому параметру промежуточное положение между оптическими и электронными микроскопами. В отличие от последних, они позволяют исследовать необезвоженные препараты с неметаллизированной поверхностью, в том числе – живые клетки, не требуют вакуумного оборудования. Применяемые в настоящее время трансмиссионные рентгеновские микроскопы (ТРМ) принадлежат к двум типам: обычные трансмиссионные рентгеновские микроскопы полного зрения и сканирующие трансмиссионные рентгеновские микроскопы (СТРМ). Оптическая схема ТРМ похожа на схему светового микроскопа. Она состоит из конденсора и объективной линзы, которая проецирует увеличенное изображение на регистрирующее устройство (ПЗС-матрицу). Поскольку рентгеновские лучи практически не преломляются в различных прозрачных для них средах, а также не отклоняются под действием электрических и магнитных полей, для их фокусировки нельзя использовать как обычные оптические, так и электрические и магнитные линзы. Для этой цели применяются зонные пластинки Френеля, состоящие из чередующихся зон, пропускающих и задерживающих рентгеновское излучение, которые располагаются концентрическими кругами.

1.9 Электронная микроскопия. Вместо лучей света в электронном микроскопе препарат облучается пучком электронов. Человеческий глаз способен воспринимать как видимый свет электромагнитное излучение с длиной волны в диапазоне от 380 до 780 нм. Разрешение микроскопа обратно пропорционально длине волны излучения. В электронном микроскопе используются электроны, ускоренные высоким напряжением, длина волны которых может быть менее 1 нм. Поэтому его разрешающая способность на несколько порядков превышает, чем разрешение светового микроскопа, позволяя на максимальном разрешении различать атомы. Корпус электронного микроскопа представляет собой полую металлическую колонну, из которой откачан воздух. В ее верхней части располагается фольфрамовая нить, которая служит катодом, ниже находится анод – металлическая пластина с отверстием, далее следуют три электромагнитные линзы и люминесцентный экран. Электрический ток, проходя через катод, вызывает поток электронов, которые ускоряются за счет высокого напряжения в несколько десятков тысяч вольт. Благодаря отверстию в центре анода формируется пучок электронов, который при помощи первой электромагнитной линзы (конденсора) фокусируется на образце. Атомы тяжелых металлов, содержащиеся в нем, рассеивают электроны и создают дифракционную картину, которую вторая электромагнитная линза (объектив) преобразует в изображение. Третья линза увеличивает изображение и проецирует его на люминесцентный экран, фотопленку или ПЗС-матрицу. Данная схема описывает устройство трансмиссионного (просве-

чивающего) электронного микроскопа (ТЭМ). Также используются растровые или сканирующие электронные микроскопы (СЭМ), которые предназначены для получения изображения поверхности объекта. Их принцип работы отличается тем, что пучок электронов движется по поверхности образца, возбуждая излучение низкоэнергетичных вторичных электронов, которые улавливаются специальным детектором, формируя изображение. Появление электронного микроскопа имело большое значение для биологии в целом и для клеточной биологии в частности. С его помощью было изучено строение мембран клетки и органелл, ядра, комплекса Гольджи, хлоропластов и митохондрий, открыты рибосомы, нуклеосомы и прочие внутриклеточные структуры. Один из основных недостатков электронной микроскопии – сложная процедура фиксации препаратов, требующая их обезвоживания и обработки солями тяжелых металлов, что исключает возможность изучения живых объектов.

2. Изготовление препаратов для световой микроскопии.

Цитологические и гистологические препараты представляют собой предметное стекло с расположенным на нём объектом, подготовленным для исследования под микроскопом. Сверху объект обычно накрывается тонким покровным стеклом. Размеры предметных стекол и их толщина стандартизированы, это облегчает хранение препаратов и работу с ними. В зависимости от характера исследуемого объекта, используются различные типы препаратов. *Тотальные препараты* – готовятся из целых мелких организмов или небольших их частей, часто требуют дополнительной обработки в просветляющих растворах. *Мазки* – применяются для изучения бактерий и простейших, в гематологии при изучении крови; могут готовиться из тканевых элементов. *Отпечатки* – готовятся путем прикладывания предметного стекла к поверхности среза органа или ткани с последующей фиксацией и окраской (например, селезенки). *Срезы* – очень тонкие сегменты биологических образцов, в простейших случаях получаемые при разрезании объекта вручную (как правило, лезвием безопасной бритвы), либо на специальном аппарате – микротоме. Микротом позволяет получать серии срезов заданной толщины. *Плёночные препараты* – готовятся из объектов, имеющих плёночное строение (соединительнотканые мембраны, серозные и мозговые оболочки) путем иссечение нужного участка и его закрепления в расправленном состоянии на восковой или пробковой подушке для избежания появления складок с последующей фиксацией и окрашиванием.

2.1 Временные препараты. Позволяют изучать живые клетки, просты в изготовлении, но не годятся для длительного хранения. Для изготовления временного препарата нужно заранее подготовить чистые предметное и покровное стёкла. На предметное стекло с помощью пипетки нанести две-три капли воды либо иной жидкости, необходимой по условиям работы (физиологический раствор, раствор Рингера или др.). Затем в воду нужно поместить объект исследования, расправить его при необходимости

и накрыть покровным стеклом. Чтобы избежать появления пузырьков воздуха, нужно расположить покровное стекло с краю капли под углом 45° , придерживая его за боковые стороны, и медленно опустить на объект. Если вода выступила за пределы покровного стекла, избыток аккуратно удалить фильтровальной бумагой. Если требуется окрасить такой препарат, то следует поместить 2–3 капли красителя на границе покровного стекла, приложить к противоположной стороне покровного стекла фильтровальную бумагу, наклонить препарат под углом 45° , следя за тем, чтобы воздух не попал под покровное стекло. Для прижизненного окрашивания клеток используют т.н. витальные красители, применяемые при очень большом разведении: кислые (трипановый синий, литиевый кармин), основные (метиленовый синий, нейтральный красный).

2.2 Постоянные препараты. Объект помещается в прозрачную твердеющую среду, где может храниться без изменений многие десятилетия. Рассмотрим последовательность действий при изготовлении постоянного препарата на основе среза животной ткани. В ходе работы необходимо максимально обеспечить: 1) сохранность прижизненного строения исследуемого объекта; 2) тонкость и прозрачность изготовленного среза; 3) чёткость и контрастность структур на готовом препарате.

Процесс изготовления постоянного препарата среза включает в себя следующие этапы:

1) Взятие материала. Происходит при помощи острых режущих инструментов (ножницы, скальпель). Его следует проводить аккуратно, не повреждая ткани. Толщина взятого образца не должна превышать 5–10 мм для быстрого и полного проникновения фиксирующей жидкости. Прижизненное иссечение материала предпочтительнее, в тех случаях, когда оно возможно. Это позволяет в наибольшей степени сохранить прижизненное состояние микроструктур. В иных случаях необходимо стремиться взять материал в максимально короткие сроки после смерти.

2) Фиксация. Выполняется в первую очередь для блокирования аутолиза (самопереваривания) и сохранения прижизненной структуры объекта. Существуют различные физические (замораживание, нагревание, высушивание, микроволновая обработка) и химические (экспозиция в различных фиксирующих жидкостях) методы фиксации. Фиксирующие жидкости бывают простого и сложного состава. Из первых чаще используются формалин, этанол, ацетон. Из вторых – жидкость Буэна, жидкость Карнуа, жидкость Ценкера, фиксатор Шабадаша. После фиксации из материала необходимо удалить избыток фиксатора. Обычно это достигается промывкой соответствующей жидкостью, в зависимости от состава фиксатора. Чаще используется вода или этанол.

3) Обезвоживание. Проводится путем последовательного выдерживания в растворах этанола возрастающей концентрации. Спирты нужной крепости получают разбавлением 96%-го спирта.

4) Заливка. Выполняется для уплотнения материала перед последующим получением тонких срезов на микротоме. Обычно для этого образец пропитывается парафином или целлоидином, после чего заливается в специальных формочках расплавленной смесью парафина и воска. Для заливки необходимо полностью удалить из образца этанол, обработав его хлороформом, бензолом, толуолом, ксилолом или другим растворителем парафина, способным вытеснять спирт.

5) Изготовление срезов на микротоме. Существуют различные конструкции микротомов. Наиболее распространены санные, ротационные и замораживающие. В *санном микротоме* объектодержатель и нож находятся на салазках, что позволяет им свободно скользить в горизонтальной плоскости. Подающее устройство перемещает объектодержатель с каждым шагом вверх на заданную толщину среза, который затем срезается ножом. В *ротационном микротоме*, наоборот, нож неподвижен, а срезы выполняются при перемещении образца. *Замораживающий микротом* оборудован металлическим столиком для замораживания объектов. При гистохимических исследованиях ферментов и прочих быстроразрушающихся веществ фиксация обычно не выполняется. Для получения срезов нефиксированной ткани применяется *криостат* – микротом, помещенный в рабочую камеру фреоновой холодильной установки.

Полученные срезы кисточкой снимают с ножа и переносят в чашку с тёплой дистиллированной водой, либо на подготовленное предметное стекло.

6) Наклеивание срезов на предметные стёкла. Может выполняться при помощи раствора белка с глицерином, дистиллированной воды или 30–40%-го раствора спирта.

7) Окрашивание. Неокрашенные клеточные структуры обычно имеют низкую контрастность и слабо различимы в микроскопе. Для решения этой проблемы чаще всего препараты обрабатываются различными красителями. Поскольку парафин уменьшает прозрачность среза и отталкивает красители, его необходимо удалить перед окрашиванием. Для этого препарат сначала проводят через растворитель парафина (ксилол или хлороформ), затем через спирты нисходящей концентрации. Замороженные срезы подобной подготовки не требуют. Далее происходит окрашивание. Если краситель растворен в воде, то срез предварительно помещается в дистиллированную воду. По химическим свойствам красители делятся на четыре группы: кислые, основные, нейтральные и индифферентные. 1. Кислые красители представляют собой окрашенные кислоты, или их соли, чаще – натриевые. Самые распространённые из них – кислый фуксин и эозин. Свойство структур окрашиваться кислыми красителями называется *ацидофилией* (*оксифилией*), а избирательно окрашивающиеся ими элементы – *ацидофильными* (*оксифильными*). 2. Основные красители представляют собой соли красящих оснований, чаще всего – хлоргидраты (гематоксилин, кармин, азур II). Свойство структур окрашиваться основными красителями

называется *базофилией*, а избирательно окрашивающиеся ими элементы – *базофильными*. Способность структур окрашиваться несколькими типами красителей называется *полихроматофилией*, а способность изменять цвет красителя – *метахромазией* (например, при окраске метиленовым синим некоторые структуры окрашиваются в красный цвет). 3. Нейтральные красители – получаются при смешивании водных растворов основных и кислых красителей (например, эозиновокислый метиленовый синий). *Нейтрофильными* называют структуры, которые окрашиваются как кислыми, так и основными красителями. 4. Индифферентные красители имеют гидрофобную природу. Они липофильны и нерастворимы в воде. Например, Судан III и Судан IV. В клетках они окрашивают липидные капли. В гистологии различают *простое* (применяется один краситель), *двойное* (два красителя) и *сложное* (три красителя) окрашивание. Сначала препарат всегда окрашивается основным (ядерным) красителем, а затем, при необходимости – кислым. После каждого из них препарат промывается в дистиллированной воде.

8) Просветление. Применяется для повышения прозрачности препарата. Просветляющие вещества разделяют на две группы: 1) *после воды* (т.е. способные смешиваться с водой – глицерин, желатин, гуммиарабик); 2) *после спирта* (не смешиваются с водой – карбол-ксилол, ксилол, толуол, бензол, эфирные масла). К первой группе относятся вещества, которые не требуют обезвоживания препаратов и одновременно применяются для их окончательного заключения. Вещества второй группы являются растворителями безводных смол (сред), поэтому срезы, которые далее будут заключены в такую среду, должны быть предварительно обезвожены. Для этого их проводят через спирты возрастающей концентрации (80%, 96%, 100%).

9) Заключение в среду. Чаще всего используется канадский бальзам, получаемый из бальзамической (канадской) пихты. Это прозрачная древесная смола желтоватого цвета, которая обладает консервирующими свойствами, сохраняет прозрачность препарата и по показателю преломления близка к оптическому стеклу. Также могут применяться кедровый и пихтовый бальзам и искусственные среды – полистирол, эупарал и др. На срез наносят тонкий ровный слой смолы и аккуратно накрывают совершенно чистым покровным стеклом, не допуская появления пузырьков воздуха. Готовый препарат помещают для сушки в тёплое тёмное место до полного высыхания. В дальнейшем препараты необходимо хранить в тёмном месте, защищённом от пыли.

3. Методы подготовки препаратов для электронной микроскопии. 3.1 Препараты для трансмиссионной (просвечивающей) электронной микроскопии (ТЭМ). Обработка материала включает следующие этапы:

1) *Взятие материала.* Основное требование – минимальное время от забора образца до его фиксации.

2) *Фиксация*. Для лучшей сохранности образца включает два этапа – префиксацию и постфиксацию. Для префиксации обычно используется 2–3% раствор глутарового альдегида на фосфатном буфере с pH 7,2–7,4. Также желательно поддерживать осмолярность среды при помощи сахарозы и добавлять ионы Ca^{2+} . Постфиксация выполняется в приготовленном на том же буфере и с тем же значением pH 1% растворе четырехоксида осмия.

3) *Обезвоживание*. Проводится в спиртах или ацетоне возрастающей концентрации.

4) *Заключение в заливочную среду*. Для электронной микроскопии используются среды, которые удовлетворяют ряд специфических требований. Существуют две группы таких сред: водонерастворимые и водорастворимые. Наиболее удобны и широко используются из первой группы – аралдит, из второй – эпон.

5) *Изготовление ультратонких срезов*. Толщина срезов имеет важное значение в электронной микроскопии и обычно составляет 150–800 нм. Для этого используются ультрамикротомы.

6) *Контрастирование срезов*. Необходимо для последующей визуализации в ТЭМ. Для этого используют различные вещества, содержащие атомы тяжелых элементов (уранилацетат, нитрат свинца, молибдено-фосфорная кислота и др.), которые создают контрастное изображение из-за рассеивания электронов.

7) *Просмотр и фотографирование*. Для фиксации изображения, в зависимости от модели электронного микроскопа, используется фотопленка, фотопластинки или матрица цифровой фотокамеры.

3.2 Препараты для растровой (сканирующей) электронной микроскопии (СЭМ). Начальные этапы подготовки препаратов для СЭМ – *взятие материала, фиксация и обезвоживание* сходны с таковыми в ТЭМ. Затем следует *высушивание*, которое может проводиться тремя способами: высушивание на воздухе, высушивание методом перехода через критическую точку и высушивание из твердого состояния (замораживание – высушивание). Первый способ – наиболее простой и доступный, но создает много дефектов на поверхности образца – сглаживание рельефа, сморщивание ткани, образование псевдоструктур и трещин. Наиболее распространен второй способ, который требует наличия специального оборудования для высушивания методом перехода через критическую точку. Последний способ дает хорошие результаты и позволяет объединить этапы обезвоживания и высушивания. Следующий этап – *монтирование объекта* – выполняется при помощи токопроводящего клея. Завершающий этап подготовки препарата – *обеспечение электропроводности* может выполняться за счёт пропитывания четырёхокисью осмия, но лучшие результаты даёт напыление тонкого слоя золота, платины или палладия.

3.3 Криофрактография. Представляет собой совокупность методов, основанных на быстром и глубоком замораживании объекта исследования, скалывании его в замороженном состоянии и изготовлении «слепок» с по-

верхности скола для дальнейшего изучения его в СЭМ. Использование этих методов значительно расширяет возможности исследования морфологии клетки, позволяя изучать структуру биологических мембран, межклеточных контактов, пространственное строение внутриклеточных структур. В настоящее время используются четыре основных способа: замораживание – скалывание, замораживание – скалывание – травление, репликация с вращением, сверхбыстрое замораживание – скалывание – глубокое травление.

4. Цито- и гистохимические методы. *Цитохимия* – это раздел цитологии, который изучает химический состав клеточных структур, синтез, распределение и активности химических соединений в клетке, их изменения в связи с функциями клетки. *Гистохимия* (топографическая биохимия) – раздел гистологии, который изучает региональное и клеточное распределение, локализацию химических веществ и активность ферментов в тканях и органах. Продукты химических реакций выявляются при помощи микроскопа, что значительно повышает чувствительность цито- и гистохимических методов. Эти методы используются в медицине для выявления патологий, диагностики и разработки новых методов лечения различных заболеваний.

4.1 Цитофотометрия. – это количественный метод определения содержания вещества или активности фермента в субклеточных структурах, тканях и органах за счет поглощения света исследуемым веществом или окрашенным продуктом реакции. Измерение проводят за счёт оценки оптической плотности окрашенного продукта в пределах определенного участка препарата при длине световой волны, соответствующей максимуму поглощения используемого красителя. Для измерений используется специальный прибор – цитофотометр, либо компьютерный анализатор изображения.

4.2 Иммуногистохимический метод. Позволяет определять локализацию в тканях разнообразных клеточных продуктов – гормонов, иммуноглобулинов, ферментов, клеточных структур – рецепторов, промежуточных и сократительных филаментов, и даже отдельных генов путём обработки препаратов мечеными антителами к выявляемому веществу. Наличие специфических меченых антител позволяет обнаружить практически любой клеточный или тканевой антиген. Антиген – соединение, которое индуцирует образование антител и / или взаимодействует с антителами. В качестве *антигенов* могут выступать как целые клеточные фракции (ядерная, митохондриальная), так и отдельные молекулы (белки, пептиды и т.д.). *Антитела* – иммуноглобулины, образованные плазматитами в ответ на попадание в организм чужеродного антигена, и имеющие рецепторы к антигену. Разновидностью данного метода является *иммуофлуоресцентный анализ*, описанный ранее в п. 1.6. Достоинство иммуногистохимического метода заключается в его высокой чувствительности. Он может быть реализован как при световой, так и при электронной микроскопии, позволяет выявлять одновременно несколько антигенов на одном препарате.

5. Методы исследования живых клеток и тканей. Позволяют получить наиболее полные сведения об их жизнедеятельности: наблюдать процессы деления, роста и развития клеток, их дифференцировки и миграции, взаимодействия в различных условиях, реакцию на влияние различных факторов. Методы исследования живых клеток и тканей разделяются на исследования в организме (*in vivo*) и в культуре (*in vitro*).

5.1 Исследования живых клеток в организме. При помощи специальных микроскопов-иллюминаторов можно проводить *наблюдения структур в живом организме*. В частности, циркуляцию крови в микрососудах. У животного под анестезией выводят наружу исследуемый объект, например, брыжейку кишечника, и изучают его при помощи микроскопа. Такое наблюдение не может длиться долгое время. Также в организм возможно *вживить прозрачную камеру* для последующего наблюдения. Наиболее удобно для такой манипуляции ухо животного, например, кролика. Далее участок уха с камерой можно изучать в микроскопе продолжительное время, наблюдая развитие тканей и другие процессы. Как естественная прозрачная камера может использоваться глаз животного. Клетки или образцы тканей могут быть внедрены в угол между роговицей и радужкой передней камеры глаза, и развиваться в содержащейся там жидкости. Наблюдения выполняются через прозрачную роговицу. Для изучения процессов развития и дифференцировки клеток может выполняться *трансплантация стволовых клеток*. Например, пересадка стволовых клеток костного мозга от здоровых животных-доноров подвергнутым смертельной дозе облучения животным-реципиентам позволило определить источники развития для всех типов клеток крови. *Витальное окрашивание* клеток и тканей подразумевает введение в организм подопытного животного красителей, которые выборочно окрашивают некоторые клетки, органеллы, межклеточное вещество. При *суправитальном окрашивании* используются живые клетки, выделенные из организма, которые подвергаются окрашиванию.

5.2 Прижизненные исследования клеток и тканей в культуре. Культивирование клеток проводится в специальных сосудах с питательной средой при соблюдении необходимой температуры и стерильности. Этот метод позволил проследить развитие ряда тканей из эмбриональных зачатков., установить закономерности злокачественного перерождения клеток, особенности взаимодействия клеток с бактериями и вирусами. Разработаны методы *выделения и культивирования отдельных типов клеток*. При этом сначала из ткани получают суспензию клеток, а затем ее разделяют на отдельные типы клеток. *Гибридизация клеток* позволяет получить гетерокарионы – комбинированные клетки с двумя ядрами. Этот метод нашел применение в картировании и определении локализации генов в геноме человека. Также с его помощью получают гибридомы – клетки, содержащие геномы двух разных клеток, одна из которых – опухолевая. Такие клеточные линии, основанные на В-лимфоцитах и «бессмертной» опухолевой

клетке, позволяют получать моноклональные антитела. *Технология рекомбинантных ДНК* позволяет получать различные клеточные белки в нужных количествах.

5.3 Методы клеточной микрохирургии. Позволяют выполнять микроинъекции различных веществ в клетки, удалять или вводить в них ядро и органоиды, разделять клетку на жизнеспособные фрагменты – ядро и цитоплазму – и создавать на их основе новые клетки. Для этого используется прибор *микроманипулятор*, а также специальные инструменты. Эти методы также получили широкое применение в клеточной инженерии, где используются для получения животных с заданными свойствами.

6. Радиоавтография. Представляет собой один из главных методов изучения метаболизма клетки. Основан на постоянном самообновлении молекул, из которых состоят клеточные структуры. Для их образования используются молекулы меньших размеров – моносахариды, аминокислоты и др. В них вводятся радиоактивные атомы с периодом полураспада не менее нескольких дней, которые служат метками. Например, ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{13}N , ^{121}I . В дальнейшем их локализацию в клетке обнаруживают по излучению, которое выделяется при распаде и воздействует на фотопластинку.

7. Фракционирование клеток. Используется для изучения изолированных отделов клетки. Включает в себя два основных этапа. Сначала исследуемый образец измельчают и *гомогенизируют* в буферном растворе при помощи специального прибора – гомогенизатора, чтобы разрушить клетки. Его основной элемент – тефлоновый пестик, который вращается в стеклянном цилиндре. Для этой цели также могут использоваться ферментативный лизис клеточных стенок, осмотический шок, механическое разрушение замороженных тканей путем размалывания или с помощью вращающихся ножей, под высоким давлением, многократное чередование замораживания и оттаивания. Полученную суспензию фильтруют и подвергают *дифференциальному центрифугированию* – центрифугированию при различных скоростях вращения ротора. Ступенчатое увеличение центробежной силы вызывает последовательное осаждение различных оргanelл в соответствии с их плотностью и размером. В процессе разрушения ткани высвобождаются ферменты, способные повреждать органеллы. Поэтому их разделение обычно проводят при низких температурах (0 – 5°C).

Контрольные вопросы

1. Какие типы микроскопов Вы знаете?
2. Как устроена механическая система светового микроскопа?
3. Как устроена оптическая система светового микроскопа?
4. Каковы основные правила работы с микроскопом?
5. Каковы правила ухода за микроскопом?
6. Что такое разрешающая способность микроскопа?
7. Каковы методы фиксации и основные фиксаторы при изготовлении постоянного препарата?

8. В какие среды можно заключать объекты при изготовлении постоянного препарата?
9. Как можно произвести обезвоживание объекта?
10. Каковы правила работы с микротомом?
11. Как происходит окрашивание срезов, наклеенных на предметное стекло? Назовите основные типы красителей.
12. Какие типы препаратов Вы знаете?

Лекция 3. ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТРОЕНИЯ И ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК

1. Клетка как элементарная единица живого.
2. Основные типы строения клетки.
3. Сходства и различия клеток растений и животных.

1. Клетка как элементарная единица живого. Клетка лежит в основе всего разнообразия живых организмов. Клетки могут отличаться по размерам и строению. Наименьшими размерами отличаются клетки некоторых бактерий (микоплазм) – 0,1–0,15 мкм. Диаметр клеток дрожжей составляет около 6 мкм, растений в среднем около 50 мкм. Среди наиболее крупных клеток – гигантский нейрон кальмара. Он имеет диаметр 1 мм, а его отростки могут достигать длины до 10 см при толщине 20 мкм. Яйце-клетки крупных птиц – страусов, пингвинов, гусей могут достигать 10–20 см в диаметре. Клетки человека и других млекопитающих в среднем имеют диаметр 3–20 мкм. Форма клеток может отличаться. Встречаются дисковидные (эритроциты человека), многогранные (многие клетки растений в составе ткани, которые подвергаются взаимному давлению), округлые (клетки печени), овальные (эритроциты земноводных), веретеновидные (гладкомышечные клетки), звёздчатые (меланофоры, нейроны) и др. В жидкой среде большинство клеток имеют округлую форму. Но, несмотря на разнообразие размеров и форм, в основе строения клеток лежит несколько общих принципов.

1) Внутреннее содержимое клетки отделено от внешней среды плазматической мембраной.

2) Плазматическая мембрана содержит системы, контролирующие перемещение через нее различных метаболитов из окружающей среды внутрь клетки и в обратном направлении.

3) Необходимые для клетки метаболиты образуются из компонентов пищи при участии внутренних ферментных систем.

4) Генетический материал клетки содержит всю информацию, необходимую для образования всех её компонентов.

5) Генетическая информация реализуется при экспрессии генов.

6) Индивидуальные белки кодируются соответствующими генами и после синтеза могут собираться в более крупные структуры.

2. Основные типы строения клетки. В соответствии с организацией внутреннего пространства все клетки можно разделить на два типа – *прокариотические* и *эукариотические*. Первый тип строения характерен для бактерий и архей. У них отсутствуют мембранные органеллы и ядро. Однако, у многих прокариот обнаружены особые впячивания цитоплазматической мембраны в цитоплазму – *мезосомы*. На них находятся ферменты, участвующие в энергетическом обмене клетки. Также считается, что они участвуют в репликации ДНК и расхождении её копий по дочерним клеткам, а также в формировании поперечной перегородки при делении клетки. Особенно хорошо развиты впячивания наружной цитоплазматической мембраны у клеток фотосинтезирующих прокариот (цианобактерий), образующие хроматофоры, тилакоиды и ламеллы, на которых расположен фотосинтетический аппарат клетки. Клетки второго типа отличаются прежде всего наличием разнообразных мембранных органелл. Их наследственный материал находится внутри ядра, окружённого двойной мембраной. Таким образом, внутреннее пространство эукариотических клеток разделено мембранами на изолированные отсеки – *компартменты*, в которых одновременно протекают разнообразные химические реакции. Следовательно, прокариотическая клетка представляет собой единый компартмент, внутри которого отсутствуют другие компартменты. Клетки эукариотического типа имеют грибы, растения и животные.

3. Сходства и различия клеток растений и животных.

Растительные и животные клетки имеют следующие черты сходства:

- 1) Единый план строения. Имеется цитоплазматическая мембрана, цитоплазма и ядро.
- 2) Общее строение цитоплазматической мембраны.
- 3) Наличие одинаковых органелл: рибосом, эндоплазматической сети, комплекса Гольджи, лизосом, митохондрий.
- 4) Общие проявления жизнедеятельности – обмен веществ и энергии, раздражимость, рост, развитие, размножение.

Различия растительных и животных клеток:

- 1) Растительные клетки в среднем крупнее животных.
- 2) В составе тканей растительные клетки расположены более плотно, животные – более рыхло.
- 3) Сформированные клетки растений, в отличие от клеток животных, имеют постоянную форму благодаря наличию клеточной оболочки.
- 4) Растительные клетки имеют крупные вакуоли. У животных клеток они, если и появляются, то в процессе старения и имеют меньшие размеры.

5) Растительные клетки имеют пластиды. Вследствие этого растительные клетки способны к автотрофному питанию. Животные клетки имеют гетеротрофный способ питания.

6) В клетках высших растений нет центриолей, кроме некоторых мхов и папоротников. В животных клетках они всегда есть.

7) Для растительных клеток характерен рост растяжением.

8) Основное запасное питательное вещество в клетках высших растений – крахмал, в животных клетках – гликоген.

9) Клетки животных снаружи от цитоплазматической мембраны имеют гликокаликс, которых отсутствует у клеток растений.

10) В клетках растений образование АТФ происходит в митохондриях и пластидах, в клетках животных – только в митохондриях.

Контрольные вопросы

1. Перечислите общие принципы, лежащие в основе строения клеток.
2. Каковы сходства и различия между животными и растительными клетками?
3. В чём состоят сходства и различия между прокариотическими и эукариотическими клетками?

Лекция 4. НАРУЖНАЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ МЕМБРАНА И ЕЁ ПРОИЗВОДНЫЕ

1. Строение и функции наружной цитоплазматической мембраны
2. Структурные основы барьерной, рецепторной и транспортной функций плазмолеммы.
3. Адгезия клеток.
4. Межклеточные взаимодействия. Клеточные контакты (соединения).

1. Строение и функции наружной цитоплазматической мембраны. Любая клетка окружена наружной цитоплазматической мембраной (плазмолеммой, цитолеммой, плазматической мембраной). Мембрана отделяет клетку от окружающей среды и обеспечивает её целостность.

Ещё в 30-е гг. XIX века было обнаружено, что в растворах клетки могут набухать и сжиматься. Это способствовало появлению гипотезы о полупроницаемости клеточной оболочки. В 1899 г. Чарлзом Овертоном была предложена **липидная модель** строения клеточной мембраны. Предположение о высоком содержании липидов в клеточных оболочках основывалось на том, что средства химической анестезии представляют собой растворители жиров. В 1925 г. Эверт Гортер и Франсуа Грендель установили, что липиды, из которых состоит мембрана эритроцитов, расположены в два слоя. Дальнейшие исследования химического состава мембран эритроцитов показали, что они состоят из липидов и белков примерно

в равном соотношении. В 1935 г. Хью Даусоном и Джеймсом Даниели была предложена *«бутербродная» модель* строения мембраны, согласно которой мембрана состоит из двух слоёв белков, между которыми находится слой липидов. На протяжении нескольких десятилетий эта модель оставалась ведущей, но постепенно накапливались противоречащие ей факты:

- 1) трехслойная структура при электронной микроскопии обнаруживается далеко не у всех мембран;
- 2) наблюдаемая в электронном микроскопе структура мембраны сильно зависит от способа фиксации;
- 3) доля электростатически связанных с мембраной белков невелика, большинство белковых молекул погружено в мембрану и экстрагируется из неё с большим трудом;
- 4) высокая подвижность молекул мембранных молекул, которую нельзя объяснить с помощью статичной «бутербродной» модели;
- 5) поддержание такой структуры требует больших затрат энергии, а трансмембранный транспорт веществ крайне затруднён.

В 1972 г. Сеймуром Сингером и Гартом Николсоном была предложена новая, *жидкостно-мозаичная модель* строения клеточной мембраны. В ней рассматривается не только вертикальная, но и горизонтальная структура биологической мембраны. Согласно их модели, белки не образуют сплошных монослоев, отдельные белковые молекулы располагаются мозаично – на поверхности билипидного слоя, частично или полностью погружены в него. Вследствие этого, по расположению мембранные белки подразделяются на *периферические* (расположены на поверхности), *полуинтегральные* (частично погружены в липидный слой) и *интегральные* (пронизывают мембрану насквозь).

Структурной единицей мембраны выступают комплексы из белков, липидов и углеводов, локализованные в менее вязком двойном слое липидов.

Мембранные белки выполняют следующие функции:

1. Структурную. Они поддерживают форму и размеры органелл и клетки в целом, будучи встроены в билипидный слой (интегральные и полуинтегральные белки);
2. Ферментативную (поверхностные белки);
3. Рецепторную – принимают и передают молекулярные сигналы (все три типа белков);
4. Транспортную – перемещают вещества через мембрану (интегральные белки).

Молекулы белков располагаются в билипидном слое мозаично и напоминают айсберги, которые «плавают» в «липидном море» (латеральная диффузия). При межклеточных взаимодействиях может происходить концентрация их на взаимодействующих участках плазмолеммы в виде агрегатов (кэппинг). В перемещении белков важную роль играют связанные с ними элементы цитоскелета (микрофиламенты). Латеральная

диффузия белков может быть ограничена. В частности, ей препятствуют межклеточные контакты.

Липиды по химическому составу представлены фосфолипидами, сфингомиелинами и холестерином (стероидный липид). молекулы фосфолипидов в билипидном слое расположены строго ориентировано – гидрофильными головками наружу, а гидрофобными хвостиками внутрь. Они способны скачкообразно менять свою вязкость при достижении определённой температуры, которая зависит от соотношения ненасыщенных и насыщенных жирных кислот. Высокое содержание холестерина в мембране некоторых клеток сглаживает этот фазовый переход. В зависимости от выполняемой функции, липиды мембраны делятся на две группы:

1) структурные – составляют основную часть липидной фазы мембраны;

2) регуляторные – регулируют вязкость мембраны, взаимодействуют с интегральными белками для выполнения последними их функций.

Холестерол участвует в формировании плотиков, которые также включают сфинголипиды. Плотики имеют упорядоченное жидкостно-мозаичное строение, их плотность и точка плавления отличаются от плазмолеммы. Они могут свободно «плавать» латерально на поверхности плазмолеммы. Также они могут связывать различные мембранные белки. В связи с большой подвижностью они участвуют в эндоцитозе. Другая их функция – модификация ответа клетки на внеклеточные сигналы путем изменения последующих сигнальных каскадов.

Молекулы структурных липидов способны вращаться вокруг своей оси и перемещаться латерально. Их полярные головки препятствуют переходу в другой слой через внутреннюю гидрофобную часть мембраны. Считается, что такие переходы совершаются при участии специальных ферментов – флиппаз. Однако, их локализация и распространение в клетках до сих пор слабо изучены. Содержание липидов в различных мембранах неодинаково. В наружной плазматической мембране их доля составляет 35–40%, в мембране митохондрий – 27–29%, в мембране шванновских клеток, образующих миелиновую оболочку нервов, – до 80%.

Наружная поверхность мембраны обычно несёт цепочки углеводов, ковалентно связанных с интегральными белками (гликопротеиды), или липидами (гликолипиды). Их функция – распознавание внешних сигналов. Это имеет важное значение для соединения клеток в ткани, деятельности регуляторных систем, формирования иммунного ответа, поглощения клеткой определенных молекул, узнавание сперматозоидом яйцеклетки.

В их состав входят галактоза, манноза, фруктоза, сахароза, арабиноза, ксилоза, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин, а также сиаловая кислота.

Все животные клетки на своей внешней поверхности цитоплазматической мембраны несут особый сильно гидратированный углеводный слой желеподобной консистенции – *гликокаликс*. В среднем его толщина со-

ставляет около 50 нм, но у разных клеток она может варьировать. В нём могут адсорбироваться выделенные клеткой белки, в том числе ферменты. Например, гликокаликс клеток эпителия тонкого кишечника в большом количестве накапливает пищеварительные ферменты поджелудочной железы, которые отвечают за пристеночное и мембранное пищеварение. Кроме того, в гликокаликсе находятся рецепторы гистосовместимости, гормонов, иммуноглобулины.

Обычно клетка имеет одну наружную мембрану. Но в некоторых случаях мембран может быть несколько. Например, в миелиновой оболочке аксона. В среднем толщина клеточных мембран составляет 6–10 нм, толщина наружной цитоплазматической мембраны – 12–14 нм.

Со стороны цитоплазмы к наружной цитоплазматической мембране прилегает **подмембранный комплекс** (кортикальный слой, терминальное сплетение), в состав которого входят:

1) микротрубочки и кератиновые филаменты, которые выполняют опорную функцию;

2) актиновые филаменты, выполняющие сократительную функцию и обеспечивающие двигательные реакции мембраны.

Подмембранный комплекс обеспечивает упругость клетки, поддерживает её форму; изменяет её поверхность, что необходимо при экзо- и эндоцитозе, секреции веществ, движении; обеспечивает латеральное перемещение молекул белков в плазмолемме; связывает поверхность клетки с компонентами цитоплазмы, обеспечивая их упорядоченное расположение.

Свойства наружной цитоплазматической мембраны:

1. Подвижность – способность изменять свою конфигурацию и обеспечивать движение клетки (лейкоциты, амёба).

2. Избирательная проницаемость – хорошо проходят одни вещества и плохо другие. Мембрана является кинетическим барьером.

3. Высокая ферментативная активность.

4. Высокая способность к регенерации.

Функции наружной цитоплазматической мембраны:

1. Разделительная – обособляет клетку от окружающей среды.

2. Защитная (барьерная) – защищает содержимое клетки от влияния внешних факторов.

3. Рецепторная – взаимодействует с сигнальными молекулами.

4. Транспортная – перемещение веществ внутрь клетки и в обратную сторону.

5. Участие в межклеточном взаимодействии – путем образования межклеточных контактов, взаимодействия с межклеточным веществом.

6. Обеспечение движений некоторых клеток (за счёт образования псевдоподий).

2. Структурные основы барьерной, рецепторной и транспортной функций плазмолеммы. Плазмолемма представляет собой избирательный барьер клетки, который ограничивает или блокирует проникновение

в клетку одних веществ, и способствует поступлению других. Благодаря этому поддерживается постоянство внутренней среды клетки. Макромолекулы и достаточно крупные микрочастицы могут попадать в клетку только внутри мембранных пузырьков, которые образуются из плазмолеммы. Если эти вещества не используются клеткой, то продолжая оставаться изолированными от цитоплазмы, они транспортируются на противоположную сторону клетки и выводятся наружу.

Клеточные рецепторы – это генетически детерминированные макромолекулы на поверхности клетки, в ее цитоплазме или ядре, которые способны воспринимать специфические сигналы химической или физической природы, передавать воспринятую информацию в клетку или внутри неё, тем самым инициируя ответную реакцию клетки на раздражитель.

Сигнальные молекулы могут располагаться на мембранах клеток, обеспечивая их взаимодействие. Вещество, которое может специфически связываться с рецептором, называется **лигандом** данного рецептора. Клетка, с рецепторами которой избирательно связываются лиганды, называется **клеткой-мишенью**. Функцию лигандов могут выполнять гормоны, нейромедиаторы, цитокины, факторы роста и др. По физико-химическим свойствам лиганды делятся на две группы. **Гидрофильные (полярные) лиганды** не могут проникать через плазмолемму, поэтому действуют на клетку через поверхностные рецепторы. Например, пептидные гормоны, цитокины, нейромедиаторы, антигены и др. **Гидрофобные (аполярные или жирорастворимые) лиганды** могут диффундировать через плазмолемму и связываться с рецепторами на внутриклеточных структурах. Например, стероидные и тиреоидные гормоны, витамин D.

Таким образом, в соответствии с их локализацией, различают **поверхностные** и **внутриклеточные** рецепторы. В свою очередь, внутриклеточные рецепторы делятся на **цитоплазматические** и **ядерные**.

1. Поверхностные (мембранные) рецепторы представляют собой липопротеины и гликопротеины плазмолеммы, которые могут связываться с полярными лигандами. Узнавание лигандов происходит благодаря похожим на антенны олигосахаридным цепочкам (гликозильным группам), состоящим из нескольких моносахаридных остатков, которые находятся на свободных поверхностях рецепторов и входят в состав гликокаликса. Эти цепочки, за счёт многообразия связей между моносахаридными остатками и существования у моносахаридов α - и β -изомеров, могут иметь множество специфических вариантов строения.

Поверхностные рецепторы регулируют следующие процессы в клетке: 1) изменение проницаемости плазмолеммы для ионов и формирование электрического потенциала; 2) секреция; 3) выделение из клетки конечных продуктов обмена веществ; 4) метаболизм; 5) сокращение.

Поверхностные рецепторы, как правило, состоят из трех частей (доменов): 1) **внеклеточный домен** непосредственно взаимодействует с лигандом; 2) **внутриклеточный (трансмембранный) домен**, передает сиг-

нал за счёт изменениям конформации 3) **цитоплазматический домен**, активирующий внутри клетки синтез вторичного посредника (**мессенджера**), который, в свою очередь, запускает цепь внутриклеточных процессов, изменяющих функциональное состояние клетки.

Роль вторичного посредника в клетке играют циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ). Их синтез этих мессенджеров катализируют, соответственно, аденилатциклаза и гуанилатциклаза. Также в качестве мессенджеров могут выступать кальций, инозитолтрифосфат, диацилглицерол и другие вещества.

Различают четыре типа поверхностных рецепторов.

1.1. Каталитические рецепторы. Часть рецептора, расположенная в цитоплазме, представляет собой фермент, который отвечает за синтез вторичного посредника (цАМФ, цГМФ), запуская каскад биохимических реакций. Это изменяет метаболизм клетки и различные цитофизиологические процессы. Например, так работают рецепторы инсулина, факторов роста и др.

1.2. Рецепторы, связанные с каналами. Рецептор связан с трансмембранным каналом (**лиганд-зависимые ионные каналы**). Присоединение лиганда служит сигналом для **воротного механизма**, который открывает либо закрывает канал. В результате изменяется концентрация ионов по разные стороны мембраны, происходит сдвиг мембранного потенциала и формируется нервный импульс. Такие рецепторы, в частности, находятся в химических синапсах нервных клеток. Лигандами к ним служат нейромедиаторы.

1.3. Рецепторы, связанные с G-белком. Рецептор состоит из семи трансмембранных белковых спиралей. В неактивном состоянии с внутренней стороны цитоплазматической мембраны с ним связан неактивный **гетеротримерный G-белок** с четвертичной структурой, который состоит из трёх субъединиц: α , β и γ . В этом состоянии G-белок связан с **гуанозиндифосфатом (ГДФ)**. Связывание лиганда вызывает изменение конформации рецептора, что приводит к активации G-белка: ГДФ замещается на **гуанозинтрифосфат (ГТФ)**, а сам белок распадается на α - и $\beta\gamma$ -субъединицы. Связанная с ГТФ α -субъединица активирует следующее звено в цепи передачи сигнала. Например, **аденилатциклазу** – фермент, синтезирующий вторичный посредник циклический **аденозинмонофосфат (цАМФ)**. Другая часть G-белка, $\beta\gamma$ -субъединица, также может вызывать собственные эффекты. Возвращение в исходное, неактивное, состояние G-белка происходит в результате медленного гидролиза ГТФ до ГДФ α -субъединицей, после чего происходит реассоциация (объединение) субъединиц. Кроме аденилатциклазы G-белки активируют кальциевые каналы, а также другие ферменты, в частности, фосфолипазы. Подавляющее большинство гормонов и нейромедиаторов действует на клетку именно через рецепторы, связанные G-белками. Помимо гетеротримерного G-белка существуют также «малые» G-белки, или **Ras-G-белки**. Они состоят из одной

полипептидной цепи, гомологичной α -субъединице гетеротримерных G-белков. Активация малых G-белков также происходит за счет замещения ГДФ на ГТФ. Они участвуют в регуляции биосинтеза белка, митотической активности клеток. Белок аналогичного строения кодируется геном одного из онковирусов. Действие этого белка вызывает неконтролируемую пролиферацию клеток, что приводит к развитию рака.

1.4. Рецепторы, связывающие молекулы внеклеточного матрикса с цитоскелетом. Примером таких рецепторов служат *интегрины*. Они служат, главным образом, для прикрепления клеток к внеклеточному матриксу и взаимодействия с белками других клеток. Их лигандами выступают молекулы внеклеточного матрикса, например, *фибронектин* и *ламинин*, а также белки на поверхности других клеток, участвующие в межклеточных взаимодействиях. Посредством других белков (таллин, винкулин, α -актинин) интегрины связаны с цитоскелетом. За счёт связывания с лигандами клетка получает информацию об окружении, которая влияет на ее функционирование. В результате могут запускаться сигналы, контролирующие некоторые клеточные программы, такие как входение в цикл, пролиферация, жизнеспособность, дифференцировка, формообразование и подвижность, а также тонкую настройку клетки на прием сигналов от других лигандов.

2. Внутриклеточные рецепторы. Расположены в цитоплазме, на мембранах клеточных органелл (*цитоплазматические рецепторы*) и в ядре (*ядерные рецепторы*). Представляют собой белки, лигандами которых выступают гормоны и другие биологически активные соединения, молекулы которых неполярны, благодаря чему они могут легко проникать внутрь клетки (стероидные и тиреоидные гормоны, витамин D₃, ретиноиды). Например, в цитоплазме локализованы рецепторы стероидных гормонов (глюко- и минералокортикоидов, андрогенов и прогестерона). В ядре присутствуют рецепторы как стероидных гормонов (эстрогенов), так и тиреоидных гормонов, ретиноидов, витамина D₃. Такие рецепторы имеют два участка. Один из них служит для связывания с гормоном, другой – взаимодействует со специфическими участками ДНК в ядре. При активации рецептора лигандом он связывается с определёнными генами, экспрессия которых влияет на функциональное состояние клетки путём синтеза ряда ферментов. Ядерные рецепторы представляют собой **факторы транскрипции**. Среди них имеются *протоонкогены* – гены нормального генома, регулирующие пролиферацию клеток органов-мишеней, их дифференцировку и межклеточные взаимодействия. Соматические мутации в протоонкогенах могут вызывать злокачественное перерождение клеток. Мембраны органелл также могут нести рецепторы. Так, на мембране митохондрий и некоторых других органелл имеются рецепторы тиреоидных гормонов. Полученные за счёт внутриклеточных рецепторов сигналы регулируют активность клеточного генома, деление клеток, их дифференцировку, апоптоз, путем синтеза ферментов влияют на интенсивность метаболизма.

3. Адгезия клеток – это процесс взаимодействия с образованием связей между специфическими гликопротеинами соприкасающихся плазматических мембран распознающих друг друга клеток, или клеток и внеклеточного матрикса. После адгезии следует формирование прочных межклеточных контактов или контактов клетки с межклеточным матриксом. Адгезия имеет важное значение во взаимодействиях клеток между собой и с внеклеточным матриксом, при поддержании внутриклеточного и тканевого гомеостаза. Она абсолютно необходима при таких общебиологических процессах, как эмбриогенез, иммунный ответ, рост, регенерация, воспаление и др. Ослабление или полное исчезновение имеет место при метастазировании злокачественных опухолей.

Явление клеточной адгезии связано с поверхностными рецепторами клеток. Различают пять классов *молекул адгезии клеток* (МАК). Все они представляют собой разновидности рецепторов.

1. Кадгерины – представляют собой семейство из более чем 70 близких по структуре белков, объединяемых двумя общими свойствами:

- 1) их внеклеточные домены для приобретения правильной конфигурации должны связываться с ионами Ca^{2+} , формируя «кальциевые мостики»;
- 2) кадгерины присоединяются к другим белкам.

Как и другие поверхностные рецепторы клеток, кадгерины состоят из трех доменов: внеклеточного, мембранного и цитоплазматического. Цитоплазматический домен связан с цитоскелетом при помощи белков *катенинов*. Внеклеточный домен отвечает за адгезию с другими клетками. Мембранный домен связывает цитоплазматический домен с внеклеточным. Они участвуют в межклеточной адгезии, миграции клеток и в передаче сигналов. Впервые эти белки были обнаружены в опоясывающих адгезивных контактах между эпителиальными клетками. Сейчас эти белки называются классическими кадгеринами, что позволяет отличить их от других, более отдаленных, представителей семейства. У позвоночных известно пять типов классических кадгеринов: E-, P-, N-, R- и VE-кадгерины. Эти названия соответствуют органам и тканям, в которых они впервые были обнаружены: эпителий, плацента, нервная система, сетчатка и эндотелий сосудов. Позднее они были обнаружены и в других тканях, но названия сохранились. Основные функции кадгеринов: обеспечение межклеточных взаимодействий дефинитивных тканей, их структурной целостности; поддержание полярности клеток, формирующих эти ткани (в особенности эпителиев); участие в процессах гисто- и органогенеза.

2. Интегрины – это мембранные рецепторы, лигандами для которых служат белки внеклеточного матрикса – фибронектин, ламинин и др. С помощью белков цитоплазмы *талиина, винкулина* α -актинина они связывают внеклеточный матрикс с актиновыми микрофиламентами цитоскелета. Кроме того, интегрины эпителиальных клеток при образовании ими полудесмосом с базальной мембраной взаимодействуют с промежуточными кератиновыми филаментами. Кроме того, некоторые интегрины участ-

вуют в адгезии с другими клетками, а не межклеточным веществом. Интегрины могут участвовать в передаче информации от плазмолеммы и межклеточного вещества к клеточному ядру.

3. Селектины. Представляют собой высокоспециализированные рецепторы клеточной поверхности и экспрессируются исключительно в клетках, сосудистой системы. В зависимости от того, в каких клетках они присутствуют, различают три типа селектинов: *L-селектин* (лейкоциты), *P-селектин* (тромбоциты) и *E-селектин* (эндотелиальные клетки). После активации цитокинами при воспалительном процессе клетки эндотелия, могут экспрессировать на своей поверхности E- и P-селектины. Они обеспечивают миграцию лейкоцитов из кровеносного сосуда к очагу воспаления в ткани, где те реализуют иммунный ответ организма. При этом лейкоциты преодолевают силу кровотока – переходят в состояние «прокатывания», замедляются и полностью останавливаются, «прилипая» к эндотелию сосудов благодаря селектинам.

4. Иммуноглобулины. Играют важную роль во взаимодействии клеток при иммунном ответе, а также в эмбриогенезе (в процессах гистогенеза и органогенеза), заживлении ран и др. Среди огромного разнообразия иммуноглобулинов к адгезионным молекулам относятся, например, ICAM-1 (от англ. **I**nter**c**ellular **A**dhesion **M**olecula-1) и VCAM-1 (**V**ascular **C**ellular **A**dhesion **M**olecula-1), которые присутствуют на мембранах эндотелиоцитов и служат для связывания лейкоцитов.

5. Хоминговые молекулы (от англ. *homing* - возвращающийся домой). Обеспечивают попадание лимфоцитов в специфическую лимфоидную ткань. В последнее время их не выделяют как самостоятельную разновидность МАК. В качестве хоминговых молекул могут выступать интегрины, L- селектин и CD44 (CD - кластер дифференцировки).

4. Межклеточные взаимодействия. Клеточные контакты (соединения). Межклеточные взаимодействия – это взаимодействия клеток между собой. Могут быть как дистантными (на расстоянии), так и контактными. Дистантные взаимодействия реализуются при участии сигнальных молекул, которые секретируются клетками вовне и действуют на другие клетки. Эти молекулы могут представлять собой гормоны, антитела, биогенные амины, цитокины и другие вещества, которые воздействуют на рецепторы клеток-мишеней. Обобщенно они называются **медиаторами**. Такие межклеточные взаимодействия относятся к информационным.

В многоклеточном организме все клетки также связаны между собой **клеточными контактами** (соединениями). Они появляются в ходе гистогенеза, а также при регенерации тканей. Их установление включает три основных этапа:

- 1) Узнавание клеткой другой клетки (может быть дистантным, при участии медиаторов, или контактным, при участии рецепторов).
- 2) Появление непрочных межклеточных связей между клетками.

3) Формирование устойчивых контактов между клетками. Второй и третий этапы происходят при участии молекул **клеточной адгезии**.

По функциональному назначению различают следующие типы клеточных контактов:

1. Механические – служат для механического соединения клеток. Включают адгезионные соединения и плотные контакты.

1.1. Адгезионные соединения – при участии специальных молекулы адгезии клеток (МАК).

1.1.1. Простое межклеточное соединение. Мембраны соседних клеток находятся на расстоянии около 20 нм, в пространстве между ними находится аморфный или фибриллярный материал. На обращённой в цитоплазму стороне мембраны находится электронноплотная пластинка, которая содержит белки α -актинин, плакоглобин, винкулин и др. В пластинке закреплены актиновые микрофиламенты. Образование такого соединения происходит при участии кадгеринов – трансмембранных МАК.

1.1.2. Зубчатое соединение (соединение по типу замка) – Плазмолемма одной из соседних клеток образует пальцевидные выпячивания, которые проникают в углубления плазмолеммы другой клетки.

1.1.3. Десмосомы

1.1.3.1. Точечные десмосомы (пятно десмосом). Скрепляет клетки в отдельных местах. Плазмолеммы соединяемых клеток находятся на расстоянии более 30 нм. С внутренней стороны мембраны каждой клетки в месте соединения находится электронноплотная пластинка, связанная с сетью кератиновых микрофиламентов. Пластинка образована не менее чем 12 различными белками (десмоплакины, плакоглобины, десмоглеины, десмоколлины, кадгерины и др.).

1.1.3.2. Опоясывающие десмосомы. Находятся возле апикального полюса эпителиальных клеток (эпителий слизистой оболочки тонкой кишки, кардиомиоциты), образуя поясок слияния со всеми соседними клетками. Расстояние между плазмолеммами контактирующих клеток составляет около 10–20 нм. В состав пластинок прикрепления входят белки α -актинин, плакоглобин, винкулин. Со стороны цитоплазмы в пластинку встроены концы актиновых микрофиламентов, которые при помощи α -актинина, β -катенинов, винкулина связаны с трансмембранным адгезионным белком E-кадгерин. При помощи ионов Ca^{2+} этот белок соединяет клеточные мембраны.

1.1.3.3. Полудесмосомы. Служат для прикрепления клеток эпителия к базальной мембране. Мембрана клетки содержит такую же электронноплотную пластинку, как и в точечной десмосоме, но вместо кадгеринов она содержит интегрины. В пластинку встроены промежуточные кератиновые филаменты.

1.2. Плотные контакты (замыкающие соединения, поясок замыкания). Представляют собой наиболее тесный и прочный способ соединения клеток. С его помощью связаны эпителиальные клетки: эндотелиоциты

сосудов, альвеолоциты, эпителиоциты (нефроциты) почечных канальцев, каемчатого эпителия тонкой кишки. Помимо механического связывания клеток, они также препятствуют прохождению молекул по межклеточным пространствам между ними. Мембраны соединяемых клеток находятся на расстоянии около 5 нм и связаны при помощи особых белков. Опоясывают клетку по окружности, часто у апикального полюса, в виде лент, поясков шириной 0.1–0.5 мкм, образованных анастомозирующими цепочками внутримембранных частиц размером около 10 нм. Содержат интегральные белки – клаудины, окклюдины и молекулы адгезионного контакта (JAM). Окклюдин связан актиновыми микрофиламентами цитоскелета. Также в образовании плотных контактов участвуют ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} . В процессе жизнедеятельности клеток контакты могут перестраиваться и даже временно размыкаться (например, при миграции лейкоцитов через сосудистый эндотелий).

2. Коммуникационные – обеспечивают взаимодействие клеток посредством химических веществ.

2.1. Щелевые контакты (нексусы). Расстояние между мембранами соседних клеток составляют около 3 нм. В них имеются каналы – коннексоны, каждый из которых состоит из 6 молекул белка коннексина. Коннексоны контактирующих клеток соединяются, образуя сквозные каналы диаметром 1.5 нм. Через них клетки свободно обмениваются низкомолекулярными соединениями (углеводами, аминокислотами, АТФ, витаминами, неорганическими ионами и др.). Такое же строение имеют **электрические синапсы**, которые отвечают за передачу возбуждения в мышечных клетках гладкой и сердечной мышечной ткани, а также встречаются в центральной нервной системе.

2.2. Синапсы. Представляют собой контакты нервных клеток между собой, а также с эффекторными мышечными и железистыми клетками. Состоят из пресинаптической и постсинаптической частей. Пресинаптическая часть образована колбообразным расширением на конце аксона, которое содержит пузырьки с медиатором и ограничена *пресинаптической мембраной*. Постсинаптическая часть представляет собой *постсинаптическую мембрану* другого нейрона, на которой находятся рецепторы, взаимодействующие с медиатором. Между ними находится *синаптическая щель* шириной 20–30 нм. В зависимости от химической природы медиатора различают 6 видов синапсов: *холинергические* (ацетилхолин), *аминаергические* (медиаторы – биогенные амины: адреналин, норадреналин, дофамин, серотонин, гистамин), *ГАМКергические* (гамма-аминомасляная кислота), *аминокислотоергические* (глутамат, аспартат), *пептидергические* (пептиды), *пуринаергические* (пуриновые нуклеотиды). Чаще всего у позвоночных животных медиаторами служат ацетилхолин и норадреналин.

2.3. Плазмодесмы. Представляют собой межклеточные каналы, соединяющие клетки растений. Они проходят внутри пор, которые пронизывают клеточные стенки соседних клеток, образуя каналы. Полость канала выстлана

мембраной, которая представляет собой продолжение плазмолеммы контактирующих клеток. В центре канала находится десмотрубочка, образованная мембраной ЭПР, которая соединяет ЭПР двух клеток. Десмотрубочка в канале окружена цитоплазмой, по которой молекулы различных веществ могут переходить из одной клетки в другую. Этим же путём могут распространяться вирусы. Плазмодесмы соединяют цитоплазму множества клеток в одну большую структуру, которая называется симпласт.

Контрольные вопросы

1. Как устроена цитоплазматическая мембрана?
2. Какими свойствами обладает и какие функции выполняет цитоплазматическая мембрана?
3. Перечислите и кратко охарактеризуйте типы клеточных рецепторов.
4. Перечислите и кратко охарактеризуйте классы молекул адгезии клеток.
5. Перечислите и кратко охарактеризуйте разновидности механических клеточных контактов.
6. Перечислите и кратко охарактеризуйте разновидности коммуникационных клеточных контактов.

Лекция 5. ЦИТОПЛАЗМА И МЕМБРАННАЯ СИСТЕМА КЛЕТКИ

1. Цитоплазма и гиалоплазма. Классификация органелл.
2. Эндоплазматическая сеть.
3. Пластинчатый комплекс.
4. Эндосомы, лизосомы и другие органеллы мембранной системы.

1. Цитоплазма и гиалоплазма. Классификация органелл. Внутреннее пространство эукариотической клетки, окружённое плазмолеммой, разделяется на два основных компартмента: цитоплазму и ядро. В состав цитоплазмы входят гиалоплазма, органеллы и включения. Гиалоплазма (цитозоль или матрикс) составляет основную часть цитоплазмы. Это водянистая, бесцветная, оптически прозрачная сложная коллоидная система с однородной или мелкозернистой структурой. В её состав входят вода, неорганические вещества, белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды, липиды. Гиалоплазма может изменять свою плотность, вязкость и текучесть под воздействием различных внешних и внутренних факторов: изменения кислотности, концентрации некоторых ионов, температуры и др., переходя из жидкого состояния (золь) в более плотное (гель) и обратно.

Функции гиалоплазмы:

1. Метаболическая – участие в метаболизме жиров, белков, углеводов.
2. Защитная – удаление белков теплового шока, аномальных белков, и белков, в которых отпала необходимость.

3. Регуляторная – контроль содержания белков, участвующих в регуляции деления, дифференцировки, апоптоза клеток.

4. Формирование жидкой среды клетки, которая связывает все компоненты клетки и участие в транспорте различных веществ.

5. Участие в движении клетки, обмене веществ и энергии.

Органеллы – это основные обязательные компоненты клетки, которые имеют постоянные, строго определённые структуру и функции. По **функциональному назначению** все органеллы делятся на две группы:

1. Органеллы общего значения. Присутствуют во всех клетках, поскольку необходимы для их жизнедеятельности. К ним относятся эндоплазматическая сеть (ЭПС), комплекс Гольджи (КГ), лизосомы, пероксисомы, митохондрии, пластиды (в растительных клетках), центриоли, рибосомы, компоненты цитоскелета (микротрубочки, микрофиламенты, промежуточные филаменты, микротрабекулярная сеть).

2. Органеллы специального значения. Присутствуют только в клетках, которые выполняют специализированные функции. К ним относятся миофибриллы в мышечных клетках и волокнах, реснички и жгутики, микроворсинки и стереоцилии.

По строению органеллы также делятся на две группы:

1) органеллы мембранного типа (эндоплазматическая сеть (ЭПС), комплекс Гольджи (КГ), лизосомы, пероксисомы, митохондрии, пластиды;

2) органеллы немембранного типа (центриоли, рибосомы, компоненты цитоскелета, миофибриллы, реснички, жгутики).

Новые мембраны в клетке образуются только на основе существующих уже 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.

2. Эндоплазматическая сеть (ЭПС) или эндоплазматический ретикулум (ЭПР) впервые была обнаружена в конце XIX – начале XX вв. при помощи световой микроскопии независимо французским гистологом Шарлем Гарнье (1897 г.) и итальянским анатомом Эмилио Вератти (1902 г.). Однако, в то время их открытие не было оценено научным сообществом. Повторно эта органелла была открыта с помощью электронного микроскопа в 1945 году американскими цитологами Китом Портером, Альбером Клодом и Эрнестом Фулламом. Позднее, в 1953 года Портер назвал эту структуру «эндоплазматическим ретикулулом».

ЭПС представляет собой система канальцев, вакуолей, мешочков, образующих в клетке непрерывную сложную сеть. Их стенки образованы мембраной, более тонкой, чем плазмолемма, но с более высокой долей белка за счёт многочисленных ферментных систем. Её толщина составляет около 7 нм.

Различают два вида ЭПС: **гранулярная** (шероховатая) и **агранулярная** (гладкая). Несмотря на отличия, они могут взаимно переходить друг в друга и функционально связаны между собой **переходной** (транзиторной) зоной.

Гранулярная ЭПС связана с наружной ядерной мембраной и продолжается в перинуклеарное пространство. Она сосредоточена, главным образом, вблизи ядра и комплекса Гольджи. На её поверхности находятся рибосомы (*полисомы*), которые прикрепляются к мембране с помощью мембранных белков – *причального белка* (docking protein) и *рибофоринов*, специальных интегральных белков, которые также связывают рибосомы и образуют трансмембранные гидрофобные каналы для транспорта синтезированной полипептидной цепи в просвет гранулярной ЭПС. Основная функция гранулярной ЭПС – синтез белка на экспорт. Также полипептидные цепочки проходят здесь начальные посттрансляционные изменения: гидроксилирование, сульфатирование, фосфорилирование, гликозилирование. Из них особенно важна последняя реакция, в результате которой образуются *гликопротеины* – наиболее массовый продукт клеточной секреции. Кроме секреторных белков, в гранулярной ЭПС образуются также белки лизосом (ферменты) и белки плазмолеммы.

Гранулярная ЭПС присутствует во всех клетках, но степень её развития варьирует. Больше количество её структур присутствует в секреторных клетках, которые синтезируют белки на экспорт. Сильнее всего гранулярная ЭПС развита в нейронах, где её цистерны расположены упорядоченно и различимы в световом микроскопе как регулярно расположенные участки базофилии цитоплазмы – *хроматофильной (базофильной) субстанции Ниссля*.

Агранулярная (гладкая) ЭПС отличается от гранулярной прежде всего отсутствием рибосом. Также её цистерны имеют трубчатую, а не уплощённую, как в гранулярной, форму цистерн. Функции агранулярной ЭПС:

1) Компартментализация внутреннего пространства клетки. Как и шероховатая, гладкая ЭПС разделяет цитоплазму клетки на компартменты – замкнутые пространства, в каждом из которых протекают свои биохимические реакции, не оказывая взаимного влияния.

2) Синтез липидов, включая мембранные, и холестерина.

3) Синтез углеводов, в том числе, гликогена; наиболее активно гликоген образуется в клетках печени – гепатоцитах.

4) Образование пероксисом. Эти пузырьки отпочковываются от гладкой ЭПС и далее заполняются ферментами, образованными в шероховатой ЭПС и гиалоплазме.

5) Синтез стероидных гормонов. Эту функцию выполняет гладкая ЭПС секреторных клеток в коре надпочечников и половых железах, содержащая соответствующие ферменты.

6) Обезвреживание эндо- и экзогенных ядов, лекарств, гормонов, биогенных аминов благодаря деятельности ферментных систем. Главную роль среди них играет **цитохром Р-450-монооксигеназная система**, наиболее развитая в гепатоцитах, коже, легких и слизистых оболочках пищеварительного тракта. Также в этих процессах участвуют пероксидаза и **флавин-содержащая монооксигеназная система**.

7) Депонирование ионов Ca^{2+} . Поскольку Ca^{2+} необходим, в частности, для процессов мышечного сокращения, он накапливается в гладкой ЭПС мышечных волокон (клеток), которая здесь называется саркоплазматической сетью (СПС). Ионы Ca^{2+} поступают путём активного транспорта из гиалоплазмы в СПР благодаря работе кальциевого насоса (кальций-зависимой АТФазы) и депонируются при помощи кальций-связывающих белков. В скелетных мышечных волокнах, кардиомиоцитах и некоторых гладких миоцитах эту функцию выполняет белок **кальсеквестрин**, а в немышечных клетках – **кальретикулин**.

8) Служит источником мембран при регенерации кариолеммы в телофазе митоза.

9) В мегакариоцитах красного костного мозга, которые производят тромбоциты, образует разграничительные каналы, по которым тромбоциты отделяются от мегакариоцитов.

3. Пластинчатый комплекс. Пластинчатый комплекс или комплекс Гольджи (КГ) был впервые описан в 1898 г. К. Гольджи в цитоплазме нейронов. Применение электронной микроскопии позволило подробно изучить его строение и функции. Он состоит из уплощенных мембранных мешков с расширениями на концах, а также крупных и мелких вакуолей. Стопка из 5–30 прилегающих друг к другу уплощенных блюдцевидных цистерн с расширенными краями называется **диктиосомой**. Выпуклая поверхность диктиосомы обращена в сторону гранулярной ЭПС. Пластинчатый комплекс в секреторных клетках животных, нейронах и некоторых растительных клетках может состоять из нескольких диктиосом, связанных при помощи ветвящихся и анастомозирующих трубочек. От цистерн в их расширенной части постоянно отделяются мембранные пузырьки.

В диктиосоме различают незрелую, формирующуюся **проксимальную**, или **цис-поверхность**, которая обращена выпуклой стороной к ядру, и противоположную ей **дистальную**, или **транс-поверхность**. Между ними находится промежуточная часть, состоящая из нескольких цистерн. Цистерны проксимальной поверхности обращены к переходной ЭПС. Небольшие транспортные пузырьки, которые отделяются от этого участка ЭПС, образуют **цис Гольджи сеть**. Они переносят в первую цистерну цис-стороны белки, синтезированные и частично процессированные в гранулярной ЭПС. Транс-поверхность имеет вогнутую форму и обращена к плазмолемме. С ней связаны многочисленные вакуоли и секреторные гранулы. Рядом располагается **транс-Гольджи сеть**, в которой белки распределяются по трём направлениям: 1) секреторные белки; 2) лизосомальные белки-ферменты; 3) белки плазмолеммы. Здесь же образуются везикулы для транспортировки этих белков. Пузырьки, в которых находятся белки плазмолеммы, не имеют клатриновой оболочки и быстро сливаются с клеточной мембраной. Секреторные пузырьки и первичные лизосомы (**гидролазные пузырьки**) окружены сетевидной оболочкой из белка кла-

трина, которая позволяет им определенное время находиться в цитоплазме, не подвергаясь изменениям.

Белки транспортируются из одной цистерны в другую при помощи транспортных пузырьков, которые формируются в расширенных боковых участках цистерн. Такое направление транспорта белков называется **антероградным**. Кроме того, существует **ретроградный** транспорт белков, направленный от транс-Гольджи сети к гранулярной ЭПС. Этим путём в гранулярную ЭПС поступают белки, необходимые для ее работы. В ходе митоза комплекс Гольджи распадается на группы пузырьков и цистерн, разбросанные по цитоплазме. После деления в каждой клетке из этих мембранных структур они собирается вновь.

Функции пластинчатого комплекса:

1) Посттрансляционный процессинг белков, синтезированных на гранулярной ЭПС. Он может включать гликозилирование с образованием гликопротеинов, ацилирование (присоединение жирных кислот), сульфатирование, фосфорилирование, а также частичный протеолиз. При этом образуются гликопротеины, протеогликаны, сульфатированные гликозаминогликаны, которые входят в состав секрета. Посредством ограниченного протеолиза (**протеолитической доработки**) из крупных белковых молекул образуются небольшие полипептидные молекулы, например, гормонов.

2) Накопление, созревание и конденсация белков, синтезированных в гранулярной ЭПС.

3) Формирование секреторных гранул, их упаковка и секреция из клетки.

4) Образование первичных лизосом (гидролазных пузырьков).

5) Регенерация клеточных мембран.

6) Образование **акросомы** – особой органеллы, находящейся на переднем конце сперматозоида. В ней находятся ферменты, необходимые для разрушения оболочек яйцеклетки, препятствующих оплодотворению.

7) Синтез полисахаридов. В пластинчатом комплексе растительных клеток образуются входящие в состав клеточной стенки полисахариды – гемицеллюлозы и пектины.

4. Эндосомы, лизосомы и другие органеллы мембранной системы. Эндосомы и лизосомы вместе образуют внутриклеточную «пищеварительную систему». Процесс расщепления веществ в ней происходит последовательно, а его интенсивность нарастает по мере движения от ранних к поздним эндосомам и далее к лизосомам.

Эндосомы. Представляют собой разновидность эндоцитозных пузырьков, в которых не только происходит транспорт веществ в клетке, но и их переваривание. В них расщепляются только макромолекулы, легкодоступные для этого процесса. Трудноперевариваемые вещества, которые требуют более жестких условий ферментации расщепляются позже в лизосомах. Поэтому впервые описавший лизосомы Кристиан де Дюв, назвал эндосомы прелизосомами.

Выделяют ранние и поздние эндосомы. **Ранние эндосомы** называются также периферическими, потому что находятся на периферии цитоплазмы, под плазмолеммой. Они образуются из эндоцитозных пузырьков, которые первоначально имеют **клатриновую оболочку**. Позднее клатрин возвращается на плазмолемму для повторного использования, а эндоцитозный пузырек превращается в **раннюю эндосому**. Её содержимое имеет слабокислую реакцию (рН не ниже 6.0). По некоторым данным, на этом этапе в ней уже присутствуют ферменты протеазы. Поэтому считается, что в ранних эндосомах может происходить расщепление макромолекул, в том числе разделение лигандов и рецепторов. Последние могут затем возвращаться в плазмолемму (**рециклинг рецепторов**). По мнению некоторых авторов, в ранних эндосомах ферменты еще отсутствуют. На мембранах как ранних, так и поздних эндосом присутствуют АТФ-зависимые протонные насосы, которые способствуют закислению внутренней среды эндосом.

Поздние (перинуклеарные) эндосомы в некоторых источниках называются **эндолизосомами**, или **ранними лизосомами**. Локализованы в приядерной зоне. Поздние эндосомы отличаются от ранних более крупными размерами, кислотностью внутренней среды (рН около 5.0). Они образуются путем слияния ранних эндосом с **гидролазными пузырьками** (ранее называвшимися **первичными лизосомами**), которые содержат более 50 гидролитических ферментов (**гидролаз**), расщепляющих эфирные, сложноэфирные, пептидные и гликозильные связи и ферментирующих белки, жиры, углеводы, нуклеотиды в кислой среде. Гидролазные пузырьки имеют размеры от 200 до 400 нм, отделяются от цистерн комплекса Гольджи и содержат ферменты, синтезированные в гранулярной ЭПС. Ферменты находятся в неактивном состоянии и активируются при образовании поздней эндосомы. Также с ними сливаются пузырьки, несущие на своей мембране протонные насосы и белки, защищающие мембрану от переваривания ферментами изнутри. Протонные насосы, например, H^+/K^+ -АТФаза необходимы для создания в эндосоме кислой среды с рН до 4.6-5.0, обеспечивающей работу ферментов. Эти пузырьки, как и гидролазные, отделяются от цистерн комплекса Гольджи. При снижении $pH < 5$ поздние эндосомы превращаются в **лизосомы** (ранее – **вторичные лизосомы**).

Лизосомы. Представляют собой пузырьки, ограниченные биологической мембраной и заполненные гидролитическими ферментами. Маркерным ферментом лизосом служит кислая фосфатаза. Их мембрана отличается наличием особых веществ, которые предохраняют её от разрушения собственными ферментами.

Выделяют первичные, вторичные и третичные лизосомы. **Первичные лизосомы** соответствуют рассмотренным выше **гидролазным пузырькам**. **Вторичные лизосомы** (фагосомы, фаголизосомы, пищеварительные вакуоли) – это собственно лизосомы, в которых происходит переваривание различных веществ. Они образуются в результате слияния гидролазных пузырьков с чужеродными частицами, поглощёнными клеткой путём фа-

гоцитоза (гетерофагосомы), или подлежащими разрушению клеточными органеллами (аутофагосомы). Третичные лизосомы (*остаточные тельца*) содержат непереваренные остатки содержимого фагосом. Например, гранулы коричневого пигмента липофусцина, которые накапливаются в особенно большом количестве в стареющих клетках.

Функции лизосом:

- 1) Пищеварительная. Участие во внутриклеточном пищеварении.
- 2) Защитная. Участие в фагоцитозе.
- 3) Аутофагия. Участие в разрушении собственных изношенных цитоплазматических структур.
- 4) Аутолиз. Участие в саморазрушении клетки после ее гибели.

Помимо с **эндосомно-лизосомного механизма** внутриклеточного расщепления веществ существует независимый от него **протеасомный механизм**, который будет рассмотрен ниже.

Пероксисомы (микротельца, глиоксисомы). Представляют собой одномембранные пузырьки диаметром 300–1500 нм. Их внутреннее пространство заполнено мелкозернистым матриксом, в центре которого находится кристаллическая сердцевина, образованная фибриллами и трубочками, где сконцентрированы различные ферменты. В пероксисомах происходит окисление аминокислот с участием кислорода. При этом образуется пероксид водорода, который затем используется для окисления сложных липидов и вредных для клетки веществ. Например, фермент *каталаза* в присутствии пероксида водорода окисляет низкомолекулярные спирты и нитриты. В клетках печени и почек таким образом обезвреживается до 50% экзогенного алкоголя. При накоплении в клетке избытка пероксида водорода, каталаза разлагает его на кислород и воду. Прочие ферменты пероксисом участвуют в разнообразных анаболических (например, биосинтез желчных кислот) и катаболических (например, β -окисление жирных кислот) биохимических процессах. У большинства млекопитающих в пероксисомах присутствует фермент *уратоксидаза* (*уриказа*). Он окисляет мочевую кислоту с образованием *аллантоина* – конечного продукта пуринового обмена, который выделяется почками. Почки человека и прочих приматов в качестве конечного продукта пуринового обмена выделяют мочевую кислоту. Поэтому уратоксидаза в их пероксисомах отсутствует. Продолжительность жизни пероксисом – 5–6 суток. Она определяется особыми белками, находящимися на мембране пероксисом – пероксинами. Пероксисомы отпочковываются в виде пузырьков от цистерн ЭПС, но механизм их образования окончательно не выяснен. Особенно много пероксисом содержится в клетках печени и нефроцитах.

Специализированные пероксисомы, которые присутствуют в клетках растений и некоторых грибов, называются **глиоксисомами**. Особенно велико их количество в богатых липидами тканях прорастающих семян. Помимо типичных ферментов, характерных для пероксисом других организмов, в них присутствуют ферменты глиоксилатного цикла. Они служат для превраще-

ния ацетил-КоА, образующегося при окислении липидов, в сукцинат, который затем выводится в цитозоль, где участвует в синтезе сахаров.

Вакуоли и сферосомы растительных клеток. В растительных клетках имеются особые формы одномембранных органоидов, которые образуются из мембран ЭПС – 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.

Контрольные вопросы

1. Гиалоплазма и цитоплазма. Функции гиалоплазмы. Классификация клеточных органелл по строению и функциональному назначению.
2. Локализация, особенности строения и функции гранулярной ЭПС.
3. Локализация, особенности строения и функции агранулярной ЭПС.
4. Какова ультраструктура пластинчатого комплекса?
5. Каков химический состав пластинчатого комплекса?
6. Какие функции выполняет пластинчатый комплекс в клетке?
7. Как устроены и какие функции выполняют лизосомы?
8. Перечислите разновидности лизосом в клетке и укажите различия между ними.
9. Как устроены и какие функции выполняют пероксисомы?

Лекция 6. МИТОХОНДРИИ И ПЛАСТИДЫ

1. Локализация и ультраструктура митохондрий.
2. Функции митохондрий.
3. Размножение митохондрий и гипотезы их происхождения.
4. Строение и функции пластид.
5. Размножение и превращения пластид.

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

1. Локализация и ультраструктура митохондрий. Митохондрии были впервые обнаружены 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.

Ультраструктура 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.

2. 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 деграда-

ции 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 негеминовое 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.

3. Размножение митохондрий и гипотезы их происхождения. 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 грибвидного 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 направ-

ленных 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.

4. Строение и функции пластид. *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 – **пропластиды, этиопласты, 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.

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 **stromu**. 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 никотинамидадениндинуклеотидфосфата (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.

Геном хлоропластов. 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. Белок-синтезирующая система у хлоропластов прокариотического типа с 70S рибосомами. Высокая степень автономности хлоропластов была отмечена еще русским ботаником К. Мережковским в 1905 г.

5. 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**.

Контрольные вопросы

1. Кем и когда были открыты митохондрии?
2. Какова ультраструктура митохондрий?
3. Как происходит размножение митохондрий?
4. Какие функции выполняют митохондрии в клетке?
5. Каковы особенности митохондриального генома и их белоксинтезирующей системы?
6. Охарактеризуйте гипотезы происхождения митохондрий.
7. Как устроены хлоропласты?
8. Какие типы пластид Вы знаете?
9. Какие функции выполняют пластиды?

Лекция 7. НЕМЕМБРАННЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ ОБЩЕГО НАЗНАЧЕНИЯ

1. Локализация, морфология и химический состав рибосом.
2. Белоксинтезирующая система.
3. Биосинтез белка.
4. Протеасомы.
5. Цитоскелет.
6. Клеточный центр.

1. Локализация, морфология и химический состав рибосом. 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 частями диаметром около 25 нм, содержащими основную массу цитоплазма-

тической 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.

Локализация рибосом в клетке. 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.

Рибосомы прокариот и эукариот. 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.

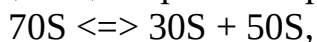
Рибосомы прокариотического типа с коэффициентом седиментации 70S содержатся также в хлоропластах высших растений. Однако рибосомы митохондрий, хотя и похожи на бактериальные, обладают более высокой видовой специфичностью. В частности, митохондриальные рибосомы дрожжей несколько крупнее типичных прокариотических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

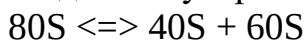
Морфология рибосом. На малом увеличении электронного микроскопа (до 20 000х) рибосомы выглядят как электронно-плотные округлые

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.

Химический состав рибосом. 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.

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 пол-

ной бесклеточной систем трансляции на прокариотических рибосомах представлены в следующей таблице.

Бесклеточная система трансляции

Минимальная	Полная
70S рибосомы E. coli	70S рибосомы E. Coli
иРНК	иРНК
набор из 20 аминоксил-тРНК	набор из 20 аминокислот
фактор элонгации EF-T _u	набор 20 аминоксил-тРНК-синтетаз
фактор элонгации EF-Ts	набор из 20 тРНК
фактор элонгации EF-G	факторы инициации IF-1, IF-2, IF-3
ГТФ	фактор элонгации EF-T _u
Mg ²⁺ (3-20 мМ)	фактор элонгации EF-Ts
	фактор элонгации EF-G
	фактор с терминации RF-1, RF-2, RF-3
	источники энергии: АТФ, ГТФ
	Mg ²⁺ (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.

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 **пептидилтрансферазный 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 теку-

щий 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 пептидилтрансферазный 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” аминоацил-тРНК. При этом происходит конкуренция между разными аминоацил-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 аминоацил-тРНК с А-центром участвует фактор элонгации EF-Tu и затрачивается энергия ГТФ.

На стадии **транспептидации** аминоацил-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 аминоацил-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 аминокислот 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.

4. Протеасомы. Протеасомы представляют собой совокупность протеаз нелизосомного происхождения. В отличие от лизосом протеасомы не имеют мембранной оболочки и не относятся к мембранным органеллам. Эти структуры состоят из основной субъединицы, имеющей цилиндриче-

скую форму, и регуляторных субъединиц, расположенных по концам основной субъединицы. Регуляторные субъединицы распознают белки, связанные с белком **убиквитином**. Данный белок «метит» цитоплазматические белки, которые должны быть разрушены, поскольку они не нужны или вредны для клетки. Такими белками являются: мутантные белки; дефектные, измененные в результате стресс-реакций белки; белки, регулирующие продвижение клетки по митотическому циклу и другие белки, необходимость в которых отпала. После присоединения к таким белкам убиквитина входящие в состав протеасом протеазы осуществляют их расщепление. Нелизосомный протеолиз имеет место как в норме, так и при клеточном стрессе. В норме протеасомы осуществляют контроль качества синтезируемых в клетках всевозможных белков. Если синтезированный белок является дефектным, он подвергается протеолизу в протеасоме. Этот процесс является также важным условием выживания клеток при действии на них стресс-факторов, ибо накопление при этом аномальных белков несовместимо с дальнейшим существованием клетки и ведет к запуску в ней программы апоптоза. Данное явление имеет клиническое значение: в последнее время ингибиторы протеасом используют для лечения онкологических заболеваний. Кроме того, протеасомы устраняют избыток цитоплазматических ферментов, а также элиминируют белки, которые выполнили свои функции и потребность в них отпала. Они разрушают белки, кодируемые внутриклеточными вирусами, белки, контролирующие клеточный цикл после прохождения клеткой определенного его этапа. В частности, в них разрушаются циклины, стимулирующие митоз, что ведет к выходу клетки из митоза. Под контролем протеасом находятся экспрессия молекул адгезии, ангиогенез, продукция цитокинов, бластомогенез (развитие опухолей) и другие важные внутриклеточные процессы. Протеасомы участвуют в процессинге эндогенных антигенов (антигенов, кодируемых вирусной ДНК, антигенов внутриклеточных паразитов и антигенов перерожденных клеток). Эти антигены предварительно расщепляются в протеасомах на пептиды из 8–11 аминокислотных остатков, а затем экспрессируются на поверхности клетки и представляются лимфоцитам для запуска дальнейших этапов иммунного процесса.

5. 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 иммунохимического 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*.

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 α -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.

Связывающие актин белки и их функции

Название	Функция
Профилин	в присутствии Ca^{2+} подавляет образование тримеров
Фрагмин	в присутствии Ca^{2+} подавляет элонгацию F-актина
Виллин	подавляют рост и стыковку нитей, что приводит к формированию коротких фрагментов F-актина
Акументин Бревин	связываются с “–” концом F-актина, что снижает скорость роста нитей
Тропомиозин	стабилизирует F-актин
Северин	в присутствии Ca^{2+} фрагментирует F-актин
α -Актинин Фимбрин Фасцин Филамин Винкулин	сшивают микрофиламенты между собой, а также прикрепляют их к мембранам, промежуточным филаментам и другим структурам
Спектрин Анкирин	прикрепляют нити F-актина к плазмолемме
Гелактины	
Гельзолин	вызывает фрагментацию и диссоциацию F-актина
Миозин	скольжение нитей F-актина относительно друг друга

Микрофиламенты способны не только изменять форму клетки или отдельных ее частей. Актино-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.

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 – α и β . 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 негидролизующихся аналогов ГТФ, но подавляется кальцием и холодом.

Как и у микрофиламентов, в полимеризации микротрубочек принимают участие вспомогательные белки, 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.

Связанные с микротрубочками белки

Название	Функция
БАМ-1 (350 кД) БАМ-2 (270 кД)	стимулируют полимеризацию
τ-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 τ-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.

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 α-спираль. Тем не менее, эти белки обладают выраженной тканевой специфичностью, которая определяется концевыми участками их молекул. Сборка филаментов происходит путем упорядоченной конденсации α-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 незна-

чительно 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 локализуются 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 **ламини 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 ламинов 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 ламинов и восстановление ядерного матрикса и нуклеолеммы.

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.

6. Клеточный центр (центросома) является универсальной структурой, организующей систему микротрубочек в клетках животных. Он локализуется около пластинчатого комплекса у клеточного ядра и состоит из двух **центриолей** и **центросферы**. Термин «центриоль» был предложен в 1895 г. немецким врачом Томасом Бовери.

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 прилегающие 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.

Контрольные вопросы

1. Каков химический состав рибосом?
2. Белоксинтезирующая система, минимальная и полная системы трансляции.
3. Охарактеризуйте этапы биосинтеза белка.
4. Строение, химический состав и функции протеасом.
5. Дайте характеристику компонентов цитоскелета.
6. Каково строение клеточного центра?
7. Какова ультраструктура центриолей?
8. Какие функции выполняет клеточный центр?

Лекция 8. ОРГАНЕЛЛЫ СПЕЦИАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ

1. Реснички и жгутики.
2. Микроворсинки.
3. Стереоцилии.
4. Нейрофибриллы.
5. Миофибриллы.

1. Реснички и жгутики эукариот 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 **деяти 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 10^0 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.

2. Микроворсинки представляют собой систематические многочисленные микроскопические выросты апикальной плазмолеммы клеток и служат для увеличения их всасывающей поверхности. Поэтому они находятся на клетках, осуществляющих всасывание веществ: клетках эпителия слизистой оболочки кишки (энтероцитах), проксимальных канальцев нефронов (нефроцитах). Поскольку микроворсинки имеются не на всех клетках, а только на клетках, специализированных на всасывании веществ, в последнее время они часто рассматриваются как органеллы специального назначения.

Микроворсинки имеют длину до 1 мкм и ширину 0,1 мкм. Из-за небольшой ширины, лежащей за пределами разрешающей способности светового микроскопа, они не воспринимаются как отдельные структуры,

а сливаются друг с другом с формированием **микроворсинчатой (щеточной) каемки**.

Основу каждой микроворсинки составляют актиновые микрофиламенты. Они связываются в пучок при помощи поперечно расположенных белков **фимбрина и фасцина**. В состав пучка входят 30–40 микрофиламентов. Одним, (+)-концом пучок с помощью **минимиозина** присоединяется к плазмолемме клетки, а противоположным (-)-концом вплетается в **терминальное сплетение (кортикальный слой)**. Благодаря наличию минимиозина, который содержится в терминальной сети, длина микроворсинок может изменяться.

3. Стереоцилии представляют собой видоизмененные микроворсинки. В отличие от последних они имеют большую длину и иногда разветвляются. Обнаруживаются на поверхности рецепторных клеток органа слуха и равновесия, где достигают длины до 100 мкм, а также эпителиоцитов некоторых отделов семявыносящих путей (имеют здесь длину 5–7 мкм). Стереоцилии рецепторных клеток органа слуха и равновесия участвуют в рецепции звуковых и гравитационных раздражителей, а также линейных и угловых ускорений, а аналогичные образования эпителиоцитов семявыносящих путей, как полагают, участвуют во всасывании жидкости, продуцируемой семенником.

4. Нейрофибриллы ранее считались органеллами специального значения нервных клеток. В настоящее время установлено, что они представляют собой артефакты, возникающие в результате импрегнации азотнокислым серебром – агрегаты **нейротубул** (микротрубочек) и **нейрофиламентов**.

5. Миофибриллы. Представляют собой специализированные органоиды – производные микрофиламентозного компонента цитоскелета. В поперечнополосатой (**скелетной, или соматической**) и сердечной мышечной ткани 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. Диаметр миофибриллы составляет 0,5–2 мкм, а длина совпадает с длиной мышечного волокна.

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 **Н-полоска**. К состоящей из десмина Z-полоске с помощью α -актинина прикреплены тонкие прото-

фибриллы 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 **фибрилярного 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 150×3 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.

В цитоплазме гладкомышечных клеток 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.

Контрольные вопросы

1. Как устроены и какую функцию выполняют гладкие и поперечно-полосатые миофибриллы?
2. Как устроены и какую функцию выполняют нейрофибриллы?
3. Как устроены и какую функцию выполняют тонофибриллы?
4. Как устроены и какую функцию выполняют реснички и жгутики?
5. Чем отличаются реснички от жгутиков?

Лекция 9. НЕПОСТОЯННЫЕ ВКЛЮЧЕНИЯ В КЛЕТКЕ

1. Общее понятие о включениях.
2. Экзогенные включения.
3. Эндогенные включения.
4. Вирусные включения.

1. Общее понятие о включениях. В отличие от органоидов включения рассматриваются как необязательные (временные) компоненты клетки. Тем не менее, они широко распространены в клетках простейших, растений и животных. Как правило, включения возникают при накоплении в клетке большого количества какого-либо органического или неорганического вещества. Если вещество поступает в клетку извне, такие включения называются **экзогенными**. Выведенные из метаболизма продукты самой клетки могут формировать **эндогенные** включения. Особый тип представляют собой **вирусные включения**, которые наблюдаются у инфицированных вирусами клеток. Хотя они и возникают в результате синтетической деятельности клетки, первичным источником этих включений является вирусный геном, который проникает в клетку извне.

Включения имеют различные размеры и форму и могут обнаруживаться как в цитоплазме, так и в ядре. Пользуясь только световым микроскопом, включения трудно отличить от органоидов. С помощью электронного микроскопа можно, однако, убедиться в том, что включения не имеют собственной мембранной оболочки и располагаются непосредственно в гиалоплазме, ядре или матриксе митохондрий и пластид. Природу включений можно установить, используя цитохимические методы.

2. Экзогенные включения. Попадающие извне вещества могут откладываться в виде экзогенных включений. Включения этого типа часто содержат соли металлов, порошки, пигменты растительного происхождения и другие вещества, которые придают клеткам характерную окраску. Например, серебро, поглощаясь эпидермисом, формирует включения, которые придают коже сероватый оттенок. Избыточное потребление моркови или помидоров может приводить к появлению у кожи желто-красного оттенка из-за накопления в жировых клетках растительного пигмента каротина. При поступлении свинца в организм он откладывается в деснах в виде синей каймы. Большое количество включений обнаруживается в погибших макрофагах легких, которые очищают альвеолы от попавшей туда пыли.

3. Эндогенные включения. Этот тип включений связан с регуляцией метаболизма клеткой и обеспечивает накопление в цитоплазме продуктов обмена углеводов, липидов, белков и других биогенных веществ, в том числе и продуктов распада. Например, в цитоплазме животной клетки часто формируются **включения гликогена**, который используется как источник вещества и энергии при делении, мышечном сокращении, голодании и других физиологических процессах. Особенно много включений гликогена обнаруживается в печени, служащей главным местом депонирования глюкозы. Вклю-

чения гликогена в клетках печени имеют вид собранных в небольшие гроздья гранул диаметром 70 нм. В клетках сердечной мышцы человека гранулы гликогена одиночные, округлой формы, несколько крупнее рибосом. В лейкоцитах тюленей крупные неправильной формы гранулы гликогена можно наблюдать не только в гиалоплазме, но и в митохондриях, что объясняется своеобразной энергетикой морских млекопитающих.

У растений запасание глюкозы происходит в виде **зерен крахмала**, которые располагаются не только в гиалоплазме, но и в матриксе хлоропластов. Морфология включений растительной клетки, содержащих крахмал и другие углеводы, в значительной мере видоспецифична.

Основным местом депонирования липидов у животных являются специализированные клетки – липоциты. Белая жировая ткань образована клетками, которые содержат одну большую каплю нейтрального жира. Бурая жировая ткань также состоит из липоцитов, но липиды в их цитоплазме формируют многочисленные мелкие капли. **Липидные капли** часто встречаются в цитоплазме низших растений, а также в семенах некоторых высших растений.

Белки в здоровой животной клетке не депонируются. Поэтому **белковые включения** в основном характерны для растительных клеток, где они часто образуют псевдокристаллы. Такие включения могут быть локализованы как в гиалоплазме, так и в пластидах.

Пигментные включения содержат окрашенные органические вещества и поэтому легко обнаруживаются в растительных и животных клетках при помощи светового микроскопа. В хлоропластах пигментные включения **пластоглобулы** накапливают **каротиноиды**, которые придают окраску цветкам и плодам. Цвет глаз, кожи и ее производных у животных и человека обусловлен размерами и количеством зерен, содержащих черный пигмент **меланин**. При старении в остаточных тельцах клеток сердечной мышцы и печени накапливаются гранулы золотисто-коричневого пигмента **липофусцина**.

Секреторные включения выявляются в секреторных клетках и состоят из продуктов, представляющих собой биологически активные вещества и другие необходимые для осуществления функций организма вещества (включения белков, в том числе и ферментов, слизистые включения в бокаловидных клетках). Эти включения представляют собой окруженные мембраной пузырьки, в которых секретируемый продукт может иметь различную электронную плотность и часто окружен светлым бесструктурным ободком.

Экскреторные включения – включения, подлежащие выведению из клетки, поскольку состоят из конечных продуктов обмена. Примером являются включения мочевины в клетках почки и др. По структуре эти включения похожи на секреторные включения.

4. Вирусные включения. Впервые были обнаружены Д. Ивановским в клетках, зараженных вирусом табачной мозаики (1882 г.). Он выявляется в зараженных вирусами клетках как с помощью светового, так и электронного микроскопа. Вирусные включения состоят из вирусных ча-

стиц, их компонентов, а также из патологически измененных клеточных органоидов. Их формирование характерно для большинства ДНК-содержащих и ряда РНК-содержащих вирусов, что используется в диагностике вирусных инфекций.

При оспе в цитоплазме зараженной вирусом клетки образуются **тельца Гварниери**. Они окрашиваются красителем Романовского-Гимзы в красный цвет и дают положительную реакцию Фельгена на ДНК. Изучение ультраструктуры телец Гварниери показало, что они состоят из скоплений созревающих вирусных частиц, паракристаллических образований, гипертрофированного пластинчатого комплекса и митохондрий.

Вирус герпеса также вызывает образование округлых оксифильных включений, но не в цитоплазме, а в ядре зараженной клетки. Они состоят из вирусных ДНК, белков и вирусных частиц различной степени зрелости.

Для зараженных РНК-содержащим вирусом бешенства нейронов характерны цитоплазматические **включения Бабеша-Негри**, которые представляют собой обширные скопления вирусной РНК и белков.

Образование вирусных включений обусловлено тем, что вирусные молекулы синтезируются инфицированной клеткой с большим избытком и не расходуются полностью в процессе созревания нового поколения вирусных частиц.

Контрольные вопросы

1. Охарактеризуйте трофические включения и их роль в клетке.
2. Охарактеризуйте пигментные включения. Какова их функция в клетках животных и растительных организмов?
3. Что такое экскреторные включения?
4. Каковы отличия секретов от экскретов?
5. Дайте классификацию непостоянным включениям цитоплазмы. Почему они так названы?
6. Назовите клетки животных и растительных организмов, для которых наиболее характерны те или иные включения?

Лекция 10. КЛЕТОЧНОЕ ЯДРО

1. Структура клеточного ядра.
2. Оболочка ядра.
3. Хроматин, ядерный матрикс и кариолимфа.
4. Ядрышко.
5. Ядерно-цитоплазматическое отношение.

1. Структура клеточного ядра. Ядро представляет собой структурный компонент, в котором сосредоточена почти вся наследственная информация клетки. Все организмы, состоящие из клеток, подразделяются на две группы – лишённые ядра **прокариоты** и имеющие ядро **эукариоты**.

Размеры геномов живых организмов

Систематическая группа	Вид	Число генов
Неклеточные формы жизни		
Ретровирусы	ВИЧ	9
Поксивирусы	Вирус оспы	199
Прокариоты		
Микоплазмы	<i>Mycoplasma genitalium</i>	470
Риккетсии	<i>Rickettsia prowazekii</i>	834
Археобактерии	<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2436
Цианобактерии	<i>Synechocystis sp.</i>	3168
Эубактерии	<i>Escherichia coli</i>	4288
Эукариоты		
Грибы	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6241
Простейшие	<i>Dictyostelium discoideum</i>	11 000
Высшие растения	<i>Arabidopsis thaliana</i>	27 540
Беспозвоочные	<i>Drosophila melanogaster</i>	13 600
Позвоночные	<i>Homo sapiens</i>	28 000

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.

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 нерастущих клетках содержание хроматина достигает почти 100 %, тогда как в быстро растущих клетках увеличивается доля ядрышек. Ядерный матрикс значительно разрастается в опухолях.

2. 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 процессе иРНК, которые транскрибируются в расположенных рядом участках

генома. Имеются также данные о том, что поровые комплексы специфически распознают поступающие из цитоплазмы в ядро белки.

3. Хроматин, ядерный матрикс и кариолимфа. 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. Основной компонент 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 α -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 ламинов 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 ламинов 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.

4. 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-

ся 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 **фибрилярного 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 AgNO₃. 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 предшественни-

ками 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 объём 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 транскриптомом – особых органоидов, обеспечивающих транскрипцию гистоновых и других крупных генных локусов. На роль транскриптомом претендуют интерхроматиновые гранулы.

5. Ядерно-цитоплазматическое отношение. Ядерно-цитоплазматическим отношением (**ЯЦО**) называется отношение площади или объёма ядра к площади или объёму цитоплазмы. Ядерно-цитоплазматическое отношение показывает, в каком состоянии находится клетка. Если это отношение равно или больше 1, это означает, что клетка имеет большое ядро и малый объём цитоплазмы. Такое ЯЦО могут иметь стволовые клетки и клетки на ранних стадиях дифференцировки, стареющие клетки, а также малые лимфоциты. Эти клетки функционально неактивны, однако некоторые из них обладают способностью к делению, например, стволовые клетки. Наоборот, клетки, у которых ЯЦО меньше 1, имеют большой объём цитоплазмы и, следовательно, большое количество органелл. Они являются высокодифференцированными и способны активно функционировать.

Контрольные вопросы

1. Приведите примеры клеток с различной формой и количеством ядер.
2. Что такое ядерно-плазменное отношение? В чем его смысл?
3. Как устроена ядерная оболочка?
4. Охарактеризуйте строение ядрышка.
5. Каково значение ядрышка в клетке?
6. Укажите основные физико-химические свойства кариоплазмы.
7. Какое значение ядра в жизнедеятельности клетки?

Лекция 11. УРОВНИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМАТИНА. ХРОМОСОМЫ

1. Химический состав хроматина и его значение для клетки.
2. Свойства эукариотической ДНК.
3. Белки хроматина.
4. Уровни структурной организации хроматина.
5. Морфология и классификация хромосом.

1. Химический состав хроматина и его значение для клетки. 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 %.

2. Свойства эукариотической ДНК. В химическом отношении ДНК хроматина представляет собой двуспиральный полимер из дезоксирибонуклеотидов, различающихся азотистыми основаниями – аденином, гуанином, цитозином и тиминном. Основания каждой из цепей комплементарно связаны между собой попарно: аденин с тиминном, а гуанин с цитозином. Одна из цепей ДНК используется для хранения наследственной информации, тогда как комплементарная ей цепь является матрицей для копирования первой.

Наследственная информация записана в смысловой цепи ДНК в виде последовательности нуклеотидов в соответствии с генетическим кодом. В связи с тем, что последовательность нуклеотидов почти не отражается на свойствах молекулы ДНК, с химической точки зрения эту молекулу можно считать однородной на всем ее протяжении.

Общее количество ДНК в диплоидном ядре эукариот колеблется в пределах от 0,033 пг у дрожжей до 200 пг у амфибий (1 пикограмм = 10^{-12} грамма). У человека масса ДНК в диплоидном ядре составляет 7.3 пг.

В генетическом плане, однако, молекула ДНК эукариот весьма неоднородна. Она представлена **уникальными последовательностями**, которые кодируют первичную структуру белков, и не кодирующими белки **повторами**. Уникальные последовательности принадлежат **структурным**

генам. Общее количество структурных генов в геноме эукариот варьирует от 10 тысяч у беспозвоночных до 30 тысяч у млекопитающих. Однако структурные гены составляют не более трети всего генома. Остальную часть генома занимают некодирующие повторы – так называемая «балластная» ДНК.

Некодирующие последовательности ДНК представлены двумя группами повторов – рассеянными по всему геному относительно короткими **диспергированными повторами** и длинными (повторяющимися более 10^6 раз) **сателлитными и теломерными ДНК**. В группу диспергированных повторов входят, в частности, диспергированные элементы LINE-1, занимающие до 20 % генома у млекопитающих. В дифференцированных соматических клетках они не транскрибируются, активируясь только при созревании половых клеток и в опухолях. Повторяющиеся последовательности сателлитных ДНК локализованы в области первичных перетяжек хромосом – центромер. Показано, что они участвуют в конъюгации негомологичных хромосом в интерфазном ядре. Теломерные ДНК также выполняют важные функции, участвуя в прикреплении хромосом к внутренней поверхности нуклеолеммы и в контроле числа делений соматических клеток.

Многие структурные гены также могут иметь повторы. Например, гены рибосомальных РНК могут быть повторены от 100 до 1000 раз, а гены гистонов – до 400 раз. Однако уровень их повторяемости явно ниже, чем у некодирующей ДНК. Большая часть некодирующей ДНК связана с гетерохроматином, основная функция которого состоит, вероятно, в структурировании генома эукариот.

3. 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 гистон 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 – НМГ (high mobility group). Первоначально они были обнаружены как примесь к гистону Н1, отличаясь более высокой электрофоретической подвижностью. В настоящее время хорошо изучены 5 белков этой группы – НМГ-1, -2, -14, -17, -20. Белки НМГ-1 и НМГ-2 (молекулярная масса 26 кД) имеют близкие последовательности, они способны приобретать глобулярную форму и связываться с ДНК. Белки НМГ-14 и НМГ-17 (молекулярная масса около 10 кД) также гомологичны между собой, но отличаются от предыдущих белков, обладая способностью связываться с гистонами. Белок НМГ-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 Н2А, формируя белок А24, который локализован в местах активной транскрипции ДНК. Все НМГ-белки содержат ДНК-связывающий домен (НМГ-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.

4. 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 расправленном 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 ламином A.

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 диамет-

ром 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.

5. Морфология и классификация хромосом. В световом микроскопе хромосома имеет вид палочки или шпильки для волос. У большинства хромосом можно увидеть **первичное сужение (первичную перетяжку) – центромер**. Локализованная здесь ДНК имеет специфическую последовательность нуклеотидов. В профазу митоза в области центромера синтезируются особые белки, образующие **кинетохор**. К кинетохору прикрепляются нити веретена деления. Центромер делит хромосомы на два плеча. В зависимости от соотношения длины плеч хромосомы подразделяются на несколько разновидностей. 1. Если длина плеч одинакова, такие хромосомы называются **метацентрическими**. 2. Если одно плечо короче второго, хромосомы являются

субметацентрическими. 3. Хромосомы с очень коротким одним плечом называются *ахроцентрическими*. Иногда на хромосомах имеются **вторичные сужения (перетяжки)**, отделяющие от хромосомы маленький участок, именуемый спутником (**сателлитом**). В области вторичных перетяжек находятся **области организации ядрышек**. На концах каждой хромосомы расположен **теломер**, представляющий собой участок ДНК со специфической последовательностью нуклеотидов, с которой не происходит считывание информации. В теломере начинаются или заканчиваются хроматиновые фибриллы. Значение теломера заключается в том, что он препятствует разрушению хромосом и слиянию их в митозе.

Согласно **Денверской классификации** хромосом (Денвер, США, 1960 г.), учитывающей размеры хромосом, расположение первичных, вторичных сужений и наличие спутника, все хромосомы делятся на 7 групп, обозначаемых первыми буквами латинского алфавита: А, В, С, D, Е, F, G. Существует также **Парижская классификация** (1971 г.) хромосом. В ее основу положена **дифференциальная окраска** хромосом некоторыми красителями (акрихином, акридиновым оранжевым). Эта окраска выявляет в хромосомах чередующиеся темные и светлые полосы (**гетеро- и эухроматиновые районы**), уникальные для каждой пары хромосом. Дифференциальная окраска позволяет достоверно отличить одну пару хромосом от другой.

Совокупность всех хромосом образует **кариотип**. Кариотип содержит всю наследственную информацию соматической клетки. Среди хромосом выделяют **соматические**, или **аутосомы**, и **половые** хромосомы. Соматические хромосомы образуют **гомологические** (похожие) пары. У человека таких пар 22. Половые хромосомы различаются в мужском и женском организме. В женском организме клетки содержат две X-хромосомы, в мужском половые хромосомы различные: X и Y, причем Y-хромосома определяет пол мужчины.

Контрольные вопросы

1. Какие Вы знаете типы хромосом?
2. Каково строение хромосомы?
3. Какой химический состав хромосом?
4. Каковы количественные изменения хромосом?
5. Каковы структурные изменения хромосом?
6. Как происходит репликация хромосом?
7. Каково значение хромосом в жизнедеятельности клетки?

МОДУЛЬ 2

Лекция 12. КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

1. Клеточный и жизненный циклы клетки. Пролиферация.
2. Периоды интерфазы.
3. Регуляция клеточного цикла.

1. Клеточный и жизненный циклы клетки. Пролиферация.

В 1835 г. появилась книга немецкого ботаника Гуго фон Моля «О размножении клеток путем деления» с первым изображением деления клеток у водоросли. Размножение клеток животных делением было описано польским ученым Робертом Ремаком в 1852 г. Окончательно деление стало признаваться единственным способом размножения клеток после выхода в свет книги Рудольфа Вирхова «Клеточная патология, основанная на физиологическом и патологическом учении о тканях» (1858).

Согласно Ремаку, вначале делится ядрышко, затем ядро и, наконец, разделяется вся клетка. Это и наблюдается в случае достаточно редкого **прямого деления**, или **амитоза**. Первое описание **непрямого деления** клеток, или **митоза**, у растений и животных, которое сопровождается временным исчезновением ядра (кариолизисом), было дано Эдуардом Страсбургером в работе «О клеткообразовании и клеточном делении» (1875). Полная картина фаз митоза была представлена Вальтером Флеммингом в книге «Клеточная субстанция, ядро и клеточное деление», изданной в 1882 г. С этого времени митоз был признан основным типом деления соматических клеток животных и растений, а неделящиеся клетки стали рассматриваться как находящиеся в состоянии покоя, или **интерфазе**.

В 1951 г. английские ученые Алма Ховард и Стивен Пелк, изучая с помощью радиоактивного изотопа фосфора ^{32}P деление клеток корней проростков конских бобов (*Vicia faba*), обнаружили, что метка включается в клетки только в интерфазе, связываясь с ДНК клеточного ядра. Позднее они показали, что включение радиоактивной метки в ДНК происходит в интерфазе в ограниченный период времени, который был обозначен как **синтетический**, или **S-период**. Период времени после митоза и до начала S-периода получил наименование **пресинтетический**, или **G₁-период** (от gar – впадина), а период от окончания S-периода и до митоза – **постсинтетический**, или **G₂-период**.

После этих экспериментов стало очевидным, что интерфаза не является периодом покоя, как считалось ранее. В этот период своей жизни клетка готовится к делению, и главным событием его является удвоение ДНК. Период времени от одного деления клетки до другого получил наименование **митотического** или **клеточного цикла**. Таким образом, исходный жизненный путь клеток заключается в последовательности событий, обеспечивающих их постоянное размножение. В качестве модели клеточного цикла используется круговая диаграмма, на которой

обозначают эти события. Прохождение клетками цикла называется **пролиферацией**.

Ситуация, когда в популяции пролиферируют все клетки, встречается редко. Обычно часть из них выходит из клеточного цикла в состояние **G₀**, которое рассматривается как период покоя. В связи с этим возникло понятие **пролиферативный пул** (ростовая фракция), которое характеризует пролиферативную активность клеточной популяции. Величина пролиферативного пула определяется как отношение числа пролиферирующих клеток к общему числу клеток в популяции. Пролиферирующие клетки идентифицируют по включению радиоактивно меченных предшественников ДНК или с помощью антител к **ядерному антигену пролиферирующих клеток (PNSA)**. Высокие значения пролиферативного пула характерны для культур клеток в экспоненциальной фазе роста – до 90 % и более.

Жизненный цикл – это время от одного деления до второго или до смерти клетки. На протяжении жизненного цикла клетка проходит все запрограммированные *этапы: деление, определение пути развития (детерминацию), дифференцировку, функционирование, старение и смерть*. Разные клетки организма в зависимости от их назначения имеют различный жизненный цикл. В связи с этим можно выделить два основных вида тканевых клеток, различающихся по жизненному циклу.

1. Стволовые клетки. Эти клетки способны к постоянному делению митозом. За счет них поддерживается тканевой гомеостаз. Жизненный цикл таких клеток будет составлять время от одного деления до второго, т.е. совпадает с митотическим циклом. Несмотря на неограниченные способности к делению и дифференцировке, стволовые клетки делятся очень редко и после завершения митоза пребывают в продленном G₀-периоде (его называют также G₁-периодом). После деления стволовые клетки превращаются в **полустволовые клетки**, которые, наоборот, интенсивно делятся, восполняя клеточные потери в ткани.

2. Дифференцированные клетки.

а) Необратимые постмитотические клетки. Такие клетки митотически делятся только в эмбриональном периоде, а затем, после достижения клеточной популяцией необходимого объема, полностью теряют способность к делению. Примером таких клеток являются нейроны, а также сердечные мышечные клетки. Жизненный цикл этих клеток состоит из следующих периодов: **митотический цикл + детерминация** (или определение пути дифференцировки, которое осуществляется активацией необходимых для дальнейшего развития генов и супрессией ненужных генов) + **дифференцировка** (появление специфических черт строения клетки, отличающих ее от других клеток и необходимых для выполнения специфической функции; осуществляется за счет трансляции белков и последующей сборки из них необходимых органелл и других компонентов клетки) + **специализация** («обучение» клетки своим функциям, *иначе* - заключительные этапы дифференцировки) + **период активного функционирования + старение + смерть клетки**.

б) Обратимые постмитотические клетки. Эти клетки (например, клетки печени) характеризуются тем, что могут выходить из митотического цикла и переходить в состояние **G₀**, или **покоя**. При этом они частично дифференцируются, в определенном объеме выполняют тканевые функции, но имеют возможность выбора одного из двух путей своего развития: или возвращения в митотический цикл и деления, или вступления в дифференцировку и функционирования в полном объеме.

2. Периоды интерфазы. Во время **G₁-периода** клетка активно синтезирует РНК и белки, восстанавливает органеллы после деления, исправляет повреждения ДНК, накапливает молекулы и энергию, необходимые для репликации. Преобладание анаболических процессов в этом периоде вызывает увеличение объема цитоплазмы. Продолжительность G₁-периода варьирует в широких пределах. Так, например, у лимфоцитов тимуса она составляет 3 часа, в кишечном эпителии – 10 часов, в печени – 48 часов, а в эпидермисе кожи – 64 часа. При неблагоприятных условиях продолжительность G₁-периода возрастает, а при стимуляции пролиферации клеток – снижается.

В **S-периоде** происходит синтез ДНК в ядре и белков хроматина в цитоплазме, 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 от количества ДНК в ядре и 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 одному кластеру, реплицируются одновременно.

В репликации ДНК эукариот принимает участие много ферментов: 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 распространяется от эухроматина к гетерохроматину. Позже всех реплицируется высокоповторяющаяся сателлитная ДНК, которая локализуется в районе центромера.

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. К концу S-периода количество ДНК и гистонов в клеточном ядре увеличивается в два раза. При этом однохроматидные хромосомы, которые были получены от материнской клетки, превращаются в двуххроматидные хромосомы. Продолжительность S-периода составляет для лимфоцитов тимуса 6 часов, клеток кишечного эпителия – 8 часов, печени – 16 часов. В течение S-периода происходит удвоение центриолей.

В **G₂-периоде** клетка начинает непосредственную подготовку к делению. При этом в ней синтезируются тубулины, необходимые для

формирования микротрубочек веретена деления, а также белки, участвующие в конденсации хромосом и других событиях митоза. Для этого периода характерен высокий уровень фосфорилирования и ацетилирования белков цитоскелета и ядерного матрикса. В G_2 -периоде наблюдается также активация тканеспецифических генов. Продолжительность этого периода у разных клеток меняется мало, составляя в большинстве случаев 2–4 часа.

3. Регуляция клеточного цикла. 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 обозначаются также **cdk** (cell division kinase). Основной принцип регуляции клеточного цикла состоит в фосфорилировании и дефосфорилировании участвующих в пролиферации 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 завершении S-периода, причем подавление репликации ДНК не влияет на этот процесс. К настоящему времени обнаружено 12 циклинов, которые демонстрируют различную динамику концентраций в цикле.

Циклины выступают как активаторы киназ клеточного деления в комплексах циклинзависимая киназа/циклин (Cdk/Cyc). В регуляции цикла участвуют также фосфатазы PP1 и PP2a, которые дефосфорилируют белки, циклинактивирующие киназы САК и ингибиторы киназ CD1.

Переход G_1/S является первой **контрольной точкой** клеточного цикла, в которой клетка принимает решение о репликации ДНК, ее репарации или апоптозе. Важная роль в контроле пролиферации клеток принадлежит белку p53 – «хранителю генома». Концентрация p53 в ядре увеличивается к концу S-периода, но падает при вступлении в S-период. Если в клетке возникли повреждения ДНК, концентрация p53 остается на высоком уровне, клетка задерживается в контрольной точке G_1/S и не переходит к репликации ДНК до тех пор, пока повреждения не будут исправлены. Если повреждения ДНК устранить не удастся (они могут быть слишком обширными или системы репарации дефектны), p53 выключает гены, которые блокируют апоптоз, и клетка элиминируется.

В конце S-периода работает вторая контрольная точка, назначение которой состоит в запуске репарационных процессов, восстанавливающих точную структуру генов после ошибок репликации ДНК. Третья контрольная точка соответствует переходу G_2/M , когда клетка принимает решение о начале митоза. Главными молекулами, контролирующими начало деления, являются фосфатаза Cdc25 и киназы Cdk1 и weel. Фосфатаза Cdc25

способна активировать киназу Cdk1/CycB, тогда как киназа weel ингибирует ее. Запуск процесса деления определяется балансом этих ферментов.

События митоза также контролируются киназами клеточного деления и циклинами. Наиболее известным регулятором митоза является **фактор промоции созревания MPF**, который представляет собой комплекс Cdc2/CycD. Циклин В контролирует образование митотического веретена, циклин А влияет на расхождение хроматид, а циклин В3 контролирует конденсацию хромосом. Для завершения митоза необходима не только определенная последовательность активации циклинзависимых киназ и фосфатаз, но и своевременная их деградация, которая обеспечивается комплексом протеаз с участием убиквитина (APC, anaphase promoting complex).

Наряду с внутренними молекулярными регуляторами клеточный цикл контролируется также внешними по отношению к клетке молекулярными сигналами. Пролиферирующие клетки отвечают на молекулярные сигналы двух типов. Первый из них усиливает пролиферацию, вызывая переход клеток из состояния G_0 в G_1 -период клеточного цикла. Так действуют **факторы роста, лимфокины и митогены**. Второй тип регуляторных белков позволяет клеткам подавлять рост их соседей, как это происходит, например, при секреции макрофагами фактора некроза опухолей.

Контрольные вопросы

1. Охарактеризуйте стадии митотического цикла.
2. Объясните понятие пролиферация.
3. Охарактеризуйте главные особенности стволовых клеток.
4. Раскройте значение генов клеточного деления в регуляции клеточного цикла.
5. Перечислите основные контрольные точки клеточного цикла.
6. Приведите примеры внешних сигналов, регулирующих клеточный цикл.

Лекция 13. ДЕЛЕНИЕ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

1. Митоз.
2. Эндомитоз.
3. Амитоз.

1. Митоз. После окончания интерфазы 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

ся 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 **астрросферу**.

В конце профазы наступает диссоциация ядрышка, а содержимое цитоплазмы и ядра сливается 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 коротким вторым плечом – **acroцентрическими**.

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. Каждая митотическая хромосома состоит из двух идентичных сестринских хроматид, связанных между собой центромерой.

Метафазная пластинка представляет собой сложный пространственный комплекс, состоящий из центриолей и 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 специ-

фически 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 стали самостоятельными хромосомами, может достигать 2 мкм/мин. При этом ориентация хромосом меняется, и они приобретают V-образную форму, поскольку центромеры опережают теломеры. 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 составляет 5–20 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 плазмалеммы между двумя ядрами и формированием перетяжки. У растений цитотомия происходит путем построения дополнительной перегородки. Общая продолжительность митоза составляет от 1 до 4 часов.

2. Эндомитоз – это вариант митоза, когда редупликация хромосом не заканчивается образованием двух клеток. Существует несколько вариантов эндомитоза, отражающих степень “продвинутости” митоза:

1. Политения. Это явление, при котором в результате редупликации ДНК происходит многократное увеличение размеров хромосом. Политения часто имеет место у беспозвоночных животных.

2. Полиплоидия – увеличение количества хромосом, обычно кратное двум. В полиплоидных клетках в последующем может происходить раз-

деление (*сегрегация*) геномов, и такие клетки распадаются на несколько клеток с диплоидным набором хромосом. Эти изменения некоторые исследователи рассматривают как проявление амитоза.

3. Образование двоядерных и многоядерных клеток. Эти клетки возникают тогда, когда ядро делится, но цитотомия не происходит. Многоядерные клетки в последующем могут путем цитотомии разделиться с образованием одноядерных клеток.

Эндомитоз в конечном счете приводит к увеличению размеров клетки и ее функциональных возможностей, поэтому его можно рассматривать как механизм приспособления, или *адаптации* клетки к изменяющимся условиям внешней среды.

3. Амитоз – это прямое деление интерфазного ядра путём перетяжки без образования хромосом, вне митотического цикла. Может сопровождаться делением клетки, либо ограничиваться делением ядра без деления цитоплазмы, что ведёт к образованию дву- и многоядерных клеток. Встречается в различных тканях в специализированных обречённых на гибель клетках, особенно в клетках зародышевых оболочек млекопитающих. Клетка, претерпевающая амитоз, в дальнейшем не способна вступить в нормальный митотический цикл. Прежний взгляд на амитоз как примитивную форму деления ядра, на основе которой развился митоз, не подтвердился. Прямое деление вегетативного ядра (макронуклеуса) инфузорий, внешне напоминающее амитоз, представляет собой качественно своеобразную форму деления ядра, возникшую на основе преобразования митоза.

В сравнении с митозом амитоз представляет собой более экономичным способом деления, так как энергетические затраты при нём весьма незначительны.

Контрольные вопросы

1. Что такое амитотическое деление?
2. В каких случаях клетки делятся амитотически?
3. К каким результатам приводит амитотическое деление?
4. Охарактеризуйте интерфазное состояние клетки. Какие периоды интерфазы Вы знаете?
5. Почему сложное деление названо митозом или кариокинезом?
6. Охарактеризуйте последовательно все стадии митоза.
7. Чем отличается митотическое деление от амитоза?
8. Что такое эндомитоз и какие известны его разновидности?

Лекция 14. МЕЙОЗ. ОБРАЗОВАНИЕ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

1. Понятие мейоза. Типы мейоза.
2. Стадии мейоза.
3. Гаметогенез.

1. Понятие мейоза. Типы мейоза. 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 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 **диплонт**. Если организм состоит из клеток с гаплоидным набором хромосом, он называется **гаплофазой**, или **гаплонт**.

Существуют 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. **Споровый (промежуточный) мейоз** характерен для растений. В их жизненном цикле происходит чередование поколений **спорофита**,

который размножается бесполом путем – 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).

2. Стадии мейоза. 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:

- **лептотена**, или стадия тонких нитей;
- **зиготена**, или стадия слияния нитей;
- **пахитена**, или стадия толстых нитей;
- **диplotена**, или стадия двойных нитей;
- **диакинез**, или стадия 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**. Для каждой хромосомы число, размеры и расположение хромомер специфичны. Количество хромомер видоспецифично: у тритона их около 2500, у сверчка – 200, у риса – 645.

Мейотические хромосомы располагаются в объеме ядра закономерным образом, контактируя теломерами с нуклеолеммой. У отдельных жи-

вотных 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, причем хромеры одной гомологичной хромосомы оказываются напротив соответствующих хромер 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 расстояние 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 осуществляется 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 опущенность, которая связана с деконденсацией некоторых хромомер. Деконденсация хромомер на стадии пахитены выступает морфологическим проявлением активации генов, контролирующей 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 хромомер. 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 расщепление 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 нитей 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 ве-

роятностью 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 цитокинез. 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 аналогично митозу, но на гаплоидном уровне. После непродолжительной профазы и растворения нуклеолеммы двухроматидные 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 цитокинезом.

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 создаваемая мейозом **комбинаторная наследственная изменчивость**, которая возникает путем случайного распределения родительских хромосом по гаметам, а также благодаря появлению гибридных, сочетающих гены отца и матери хромосом в результате кроссинговера.

3. Гаметогенез. *Гаметогенезом* или *прогенезом* называется процесс образования половых клеток. В свою очередь, гаметогенез делится на **сперматогенез** (образование сперматозоидов) и **оогенез** или **овогенез** (образование яйцеклеток). Развитие половых клеток в эмбриогенезе человека начинается довольно рано. Как полагали, они возникают во внезародышевой желточной энтодерме в конце 3-й недели эмбриогенеза. Однако по последним данным, впервые половые клетки появляются на 2-й неделе эмбриогенеза в эпибласте в области первичного (гензеновского) узелка, откуда мигрируют в желточный мешок, где происходит их накопление. Позднее эти клетки, называемые гоноцитами, мигрируют в закладку половых желез на медиальной поверхности первичной почки и принимают участие в образовании половых желез – гонад.

Сперматогенез. Процесс развития мужских половых клеток – сперматозоидов – называется **сперматогенезом** и протекает в мужских гонадах – семенниках, начиная с момента полового созревания мужчины. В сперматогенезе различают 4 фазы: **размножения, роста, созревания и формирования.**

На протяжении фазы размножения мужские половые клетки представлены **сперматогониями**. Это мелкие округлые клетки, делящиеся митозом. Они подразделяются на **А-** и **В-** сперматогонии. В свою очередь, среди **А-** сперматогоний выделяют **темные** и **светлые** сперматогонии. Темные сперматогонии являются истинными стволовыми клетками, устойчивы к действию вредных факторов и способны совершать редкие митотические деления. Светлые **А-**сперматогонии являются полустволовыми клетками, способными к частым митотическим делениям. При делении каждой такой сперматогонии могут возникать либо две **А-**сперматогонии, либо одна **А-** и одна **В-**сперматогония. **В-**сперматогонии также способны митотически делиться, однако при этом не происходит цитотомии, и клетки оказываются связанными между собой цитоплазматическими мостиками. В результате возникают истинные синцитии, или **клоны (ассоциации)** клеток.

После некоторой паузы **В-**сперматогонии вступают в период роста, в течение которого превращаются в **сперматоциты первого порядка**. Для периода роста характерно значительное нарастание объемов ядра и цитоплазмы развивающихся клеток, причем их размеры увеличиваются в четыре и более раз.

Сперматоциты **I** порядка далее вступают в период созревания. Он включает два последовательных деления: **мейоз I (редукционное деление)** и **мейоз II (эквационное, уравнительное деление)**.

Все образующиеся в процессе сперматогенеза клетки (**В-**сперматогонии, сперматоциты **I** и **II** порядка, а также сперматиды) остаются связанными между собой цитоплазматическими мостиками в **клеточные ассоциации**, или **клоны**. Окончательное разделение клеток происходит в фазу формирования. Сохранение цитоплазматических мостиков между клетками имеет очень большой биологический смысл. Для полноценной дифференцировки сперматозоидов необходим весь диплоидный геном и продукты его деятельности. Во-первых, потому, что в исходном диплоидном геноме могут содержаться дефектные, летальные аллели генов, и клетка, получившая их, погибнет, если не будет обеспечена продуктами нормального аллеля, находящегося в ядрах клеток, его получивших. Во-вторых, как известно, одни мужские половые клетки получают **X-**, другие - **Y-** половую хромосому. Каждая из них содержит много важных генов, необходимых для развития сперматозоидов. Поэтому благодаря цитоплазматическим мостикам развивающиеся мужские половые клетки получают продукты деятельности всего генома.

Фаза формирования является самой продолжительной фазой сперматогенеза. В процессе ее из сперматид образуются **сперматозоиды**. Часто эту фазу называют **спермиогенезом**. Она длится дольше всех остальных фаз (около 50 суток). Спермиогенез начинается с образования из комплекса Гольджи вначале **акробласта**, а затем **акросомы**, содержащей ферменты для разрушения яйцевых оболочек. Центросома, состоящая из двух

центриолей, перемещается в противоположный полюс. Проксимальная центриоль прилежит к ядру и остается неизменной. Она принимает участие в дроблении зиготы, т.к. яйцеклетка не содержит центросомы. Дистальная центриоль делится на две части. Из одной части образуется жгутик, который превращается в осевую нить хвостика. Вторая часть играет роль базального тельца. Образуются элементы цитоскелета: **сегментированные колонны, плотные волокна, продольные столбы с ребрами**. Цитоплазма сперматозоида сильно редуцируется, а ядро становится вытянутым, компактным и гипербазафильным. На заключительных этапах формирования сперматозоида отделяются от соединяющей их друг с другом общей цитоплазмы и становятся свободными. Оставшийся после отделения объем цитоплазмы (*остаточные тельца*) подвергается фагоцитозу эпителиоцитами извитых семенных канальцев яичек (клетками Сертоли).

Оогенез. Принципиально оогенез протекает сходно со сперматогенезом, но имеет ряд отличий. Исходными клетками в овогенезе являются первичные половые клетки (гоноциты), развивающиеся в раннем эмбриональном периоде в женской половой железе – яичнике. Эти клетки входят в состав эпителия индифферентной половой железы. В дальнейшем данный эпителий вырастает в виде тяжей в мезенхиму первичной почки (мезонефроса), а затем распадается на отдельные островки (шары Пфлюгера). В составе этих островков находятся половые клетки и окружающие их эпителиоциты (в дальнейшем – фолликулярные клетки). Гоноциты превращаются в овогонии. Эти мелкие клетки вступают в фазу размножения и интенсивно делятся митозом. В результате к концу эмбрионального развития их число достигает 2–7 млн. Деление клеток не сопровождается цитотомией, в результате, как и при сперматогенезе, формируется истинный синцитий (клон клеток). К моменту рождения период размножения заканчивается. Начиная с конца 3-го месяца эмбриогенеза и до рождения девочки, одни овогонии превращаются в **первичные овоциты**, другие же продолжают делиться. С 8-й по 14-ю неделю эмбриогенеза происходит разрушение цитоплазматических мостиков между овогониями, синцитий распадается, овогонии и овоциты окружаются уплощенными клетками целомиического эпителия, которые называются фолликулярными клетками. Так возникают **примордиальные фолликулы**. После рождения размножение овогоний прекращается, все они превращаются в овоциты I порядка, которые блокируются на стадии диплотены первого мейотического деления.

Далее овоциты I порядка вступают в длительный период роста. Этот период делится на две части:

1) период *малого*, или *медленного* роста длится от рождения до полового созревания;

2) период *большого*, или *быстрого* роста происходит циклически на протяжении каждого менструального цикла. В период быстрого роста идет подготовка к мейозу. Таким образом, период роста может составлять 12 – 50 лет. Третья фаза овогенеза – созревание – начинается перед овуляцией.

Происходит первое мейотическое деление и образуется овоцит II порядка, который вступает во второе мейотическое деление, но блокируется в метафазе. Второй клеткой является **редукционное тельце**. Далее следует мейоз II, который блокируется в метафазе второго деления мейоза.

При оплодотворении во вторичный овоцит проникает сперматозоид, и овоцит называется **пенетрированным овоцитом**. Проникновение сперматозоида стимулирует овоцит, и он завершает второе мейотическое деление. В результате образуется овотида и второе редукционное тельце. В конечном итоге в процессе овогенеза формируются одна **овотида** и три **редукционных тельца**, т.е. деление клеток в мейозе неравномерное. Таким образом, при овогенезе стадия зрелой яйцеклетки как таковая отсутствует, есть стадия овотиды, которая образуется при пенетрации сперматозоидом вторичного овоцита. Овотида млекопитающих характеризуется тем, что содержит два отдельных гаплоидных набора хромосом в форме мужского и женского пронуклеусов. Соединение этих наборов в единый диплоидный ведет к образованию зиготы. При отсутствии оплодотворения половая клетка дегенерирует на стадии вторичного овоцита.

В отличие от сперматогенеза возникающие в результате двух делений мейоза клетки не равны по размерам. Из овоцита I порядка образуется крупный овоцит II порядка и очень мелкое редукционное тельце, которое может делиться на два редукционных тельца. Из овоцита II порядка образуется оотида и третье редукционное тельце. Следовательно, в результате двух делений образуется одна яйцеклетка и три редукционных тельца, которые вскоре погибают и фагоцитируются фолликулярными клетками. Яйцеклетка теряет центриоли. Таким образом, яйцеклетка, или оотида, как таковая **фактически не существует**: ооцит II порядка в процессе оплодотворения сразу превращается в зиготу, т.е. в одноклеточный зародыш, и стадия овотиды выпадает.

Отличия сперматогенеза от овогенеза

Сперматогенез	Оогенез
Фаза размножения осуществляется только с наступлением полового созревания и продолжается в течение всей жизни мужчины	Фаза размножения происходит только в эмбриональном периоде и непродолжительное время после рождения
Фаза роста сразу следует за размножением, короткая	Фаза роста очень длительная, делится на малый рост и большой рост. Малый рост реализуется от момента рождения до полового созревания
Фаза созревания характеризуется равномерным делением сперматоцитов	Фаза созревания характеризуется неравномерным делением овоцитов: образуется одна яйцеклетка и три редукционных тельца

Есть фаза формирования	Фаза формирования отсутствует
“Экономичность” сперматогенеза: из одной сперматогонии образуется 4 сперматозоида	“Расточительность” овогенеза: из одной овогонии образуется одна крупная яйцеклетка и три мелких редуционных тельца
Сперматогенез продолжается в течение всей жизни мужчины, хотя интенсивность его постепенно снижается	Овогенез прекращается после менопаузы

Контрольные вопросы

1. Перечислите типы мейоза по положению в жизненном цикле организмов.
2. Опишите последовательно стадии мейоза.
3. Чем отличается митотическое деление от мейоза?
4. Перечислите стадии профазы мейоза I и опишите происходящие в них процессы.
5. Перечислите фазы сперматогенеза и опишите происходящие в них процессы.
6. Перечислите фазы овогенеза и опишите происходящие в них процессы.

Лекция 15. ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КЛЕТОК

1. Понятие о дифференциации клеток. Стволовые клетки.
2. Дифферон.
3. Механизмы клеточной регенерации и адаптации.

1. Понятие о дифференциации клеток. Стволовые клетки. Дифференциацией клеток, или цитодифференцировкой, называется процесс приобретения клетками функциональной специализации на основе молекулярно-генетических механизмов, обеспечивающих избирательную экспрессию и взаимодействие генов. Организм взрослого человека образован 50 триллионами клеток, которые обеспечивают опорно-двигательные функции (костная и мышечная ткани), пищеварение (эпителий желудочно-кишечного тракта), дыхание и питание клеток (кровь и лимфа), получение и обработку информации (нервная ткань) и т. п. Всего в организме человека насчитывается более 200 специализированных типов клеток, являющихся потомством оплодотворенной яйцеклетки, или зиготы. У взрослого организма генетическую роль зиготы в обладании полным набором генов принимают на себя **стволовые клетки**. Такая клетка принципиально отличается от других соматических клеток тем, что она не выполняет никаких функций, но способна порождать специализированные типы клеток.

Понятие «стволовая клетка» было предложено в 1868 г. немецким биологом Эрнстом Геккелем. В 1886 г. английский ученый Уильям Сэдвик впервые использовал этот термин по отношению к растениям. В 1910 г. русский цитолог А.А. Максимов разработал унитарную теорию кроветворения, согласно которой все клетки крови берут свое начало от одной стволовой клетки. Экспериментальное доказательство существования стволовых клеток крови было получено Дж. Тиллом и Э. МакКаллохом в 1961 г. с помощью разработанного ими метода селезеночных колоний. К 2000 г. стволовые клетки научились выделять и культивировать *in vitro* (М. Капеччи, М. Эванс, О. Смитис).

Стволовые клетки различаются прежде всего по своему потенциалу развития. Наиболее широким потенциалом – **тотипотентностью** – обладает оплодотворенная яйцеклетка, или зигота, а также бластомеры на первых стадиях дробления. Эти клетки формируют весь зародыш и внезародышевые органы. **Плюрипотентные** стволовые клетки – внутренняя масса бластоцисты, выращиваемые вне организма эмбрионидные тела, индуцированные *in vitro* стволовые клетки – также дают начало эмбриональным и экстраэмбриональным тканям, но не всему зародышу. **Мультипотентные** стволовые клетки способны порождать ограниченный набор клеточных типов в пределах одной группы тканей. Примерами являются стволовые клетки эмбриональной соединительной ткани – мезенхимы, которые дают различные типы соединительных тканей, гладкую мышечную ткань, кровь, эндотелий сосудов и т. п. **Полипотентные** стволовые клетки характерны для взрослого организма. Они в наибольшей степени ограничены в своих потенциях и поэтому способны порождать ограниченный набор клеточных типов в пределах одной ткани. Фактически каждая ткань организма человека имеет собственные полипотентные стволовые клетки – кровь, кишечный эпителий, эпидермис, группа соединительных тканей, нервная ткань. Исключение составляют, пожалуй, мышечные ткани, для которых существует несколько типов стволовых клеток.

Различают три разновидности стволовых клеток человека:

- **эмбриональные стволовые клетки**, которые извлекают из 5–6-дневного эмбриона. Они способны формировать любые типы клеток организма человека;
- **эмбриональные зародышевые клетки**, происходящие из той части зародыша, которая формирует в организме гамету;
- **стволовые клетки взрослого организма**, которые сохраняются во взрослом организме и порождают ограниченное число типов клеток в течение его жизни.

Тип	Потенциал	Пример
Тотипотентные	Порождают весь организм	Клетки эмбриона на 1–3-й день развития
Плюрипотентные	Порождают любые типы зрелых клеток	Клетки эмбриона на 5–14-й день развития
Мультипотентные	Порождают ограниченный набор клеточных типов	Клетки эмбриона на поздних этапах развития, кровь из пуповины
Полипотентные	Порождают клетки одной ткани	Стволовые клетки взрослого организма

Эмбриональные стволовые клетки (embryonic stem cells, ESC) относятся к мульти– или плюрипотентным, их извлекают из бластоцисты и культивируют вне организма, получая **эмбрионидные тела**. Этот тип клеток используется в технологии терапевтического клонирования, позволяющей исправлять наследственные дефекты на уровне эмбриона. В отличие от них стволовые клетки взрослого организма (adult stem cells, ASC) дифференцируются в ограниченный спектр клеточных типов, поскольку являются полипотентными. Их можно выделять из различных источников – красного костного мозга, крови, печени, жировой ткани, поджелудочной железы, но в ограниченном количестве.

В связи с тем, что стволовые клетки не выполняют специфических функций, их идентификация возможна только по молекулярным маркерам клеточной дифференцировки – антигенам CD. Эти антигены клеточной поверхности распознаются с помощью моноклональных антител. Например, стволовые клетки крови имеют маркер CD34, который позволяет отнести их к гемопоэтической линии, и маркер CD117. Стволовые клетки из костного мозга и пупочного канатика распознаются по наличию рецептора $ClqR_p$ к белку Clq системы комплемента. Многие стволовые клетки взрослого организма имеют маркер CD133. Для идентификации и выделения стволовых клеток используется также их свойство удалять флуорохромы Hoechst-33342 или родамин-123. Эта особенность стволовых клеток определяется экспрессией гена ABCG2 у человека и его гомолога *Bcrply* мыши. В целом не менее 200 генов являются общими для различных линий стволовых клеток взрослого организма. Будучи аутологичными, эти клетки и их потомство не вызывают отторжения при введении в тот же организм. Стволовые клетки способны пролиферировать и дифференцироваться вне организма, что дает возможность восстанавливать органы и ткани.

В 1962 г. английский эмбриолог Д. Гёрдон клонировал шпорцевую лягушку путем замены ядра яйцеклетки ядром клетки кишечника. Этот эксперимент показал, что ядро зрелой соматической клетки может переходить в состояние, соответствующее его состоянию в стволовой клетке, под воздействием цитоплазматических факторов. Первые линии культивируе-

мых вне организма эмбриональных стволовых клеток мыши и человека были получены в 1998 г. Воздействуя на них молекулярными индукторами дифференцировки, получают клетки различных тканей. Можно также подобрать такие условия культивирования, чтобы стволовые клетки размножались длительное время, сохраняя плюрипотентность.

В 2006 г. К. Такахаши и С. Яманака путем подбора сочетаний 24 транскрипционных факторов, характерных для стволовых клеток, показали, что для индукции плюрипотентности необходима экспрессия всего лишь четырех из них – Oct3/4, Sox2, Klf4 и С-Мус. Полученные таким способом клетки получили наименование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Как и обычные эмбриональные стволовые клетки, они способны проходить полную программу дифференцировки и формировать любые типы клеток эмбриона и взрослого организма.

Для получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток из соматических используют методы введения в клетки соответствующих молекулярных факторов с помощью вирусов или мРНК. Для этого можно также использовать обработку клеток химическими соединениями, которые вызывают структурные перестройки, «ремоделлинг» хроматина. За разработку методов репрограммирования стволовых клеток путем переноса ядра соматической клетки в ооцит или индукции плюрипотентности Д. Гёрдону и С. Яманаке была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине за 2012 г.

2. Дифферон представляет собой клон стволовой клетки, который в процессе пролиферации и дифференцировки создает и поддерживает структурно-функциональную организацию ткани.

Дифферон состоит из стволовых клеток, транзитной популяции незрелых пролиферирующих клеток и зрелых специализированных клеток.

Зрелые клетки обычно утрачивают способность к делению и через некоторое время после окончания жизненного цикла погибают путем апоптоза. Например, кроветворный дифферон образован находящимися в красном костном мозге стволовыми клетками крови, которые порождают зрелые типы клеток крови: специализирующиеся на переносе кислорода эритроциты, обеспечивающие свертывание крови тромбоциты, защищающие организм от бактерий, вирусов и других патогенов лейкоциты.

Дифферон можно представить в виде бинарного дерева с узлами, которые обозначают деление клеток и одновременно выбор пути развития. Примером может служить дифферон тонкого кишечника, в котором стволовая клетка порождает такие основные типы клеток, как всасывающие и продуцирующие слизь бокаловидные. Выбор типа определяется путем взаимодействия дочерних клеток с участием Notch- и Wnt-сигнальных путей: первый отвечает за пролиферацию клеток, второй – за выбор пути развития. Если заблокировать Wnt, будут созреть только всасывающие клетки, если заблокировать Notch – бокаловидные. В регуляции более слож-

ного кроветворного дифферона участвуют Notch- и Wnt-сигнальные пути, а также дополнительно Shh-путь.

Функционирование дифферона зависит от количества и состояния стволовых клеток, а также их ближайшего окружения. Специальные молекулярно-генетические механизмы стволовых клеток (в частности, **теломеразные часы**) определяют продолжительность жизни дифферона и всего организма в целом. Благодаря асимметричному делению, при котором одна дочерняя клетка сохраняет свойства стволовой, а вторая становится **коммитированной** (т. е. предрасположенной к развитию в определенный клеточный тип), и симметричному делению, когда обе дочерние клетки сохраняют стволовость или становятся коммитированными, популяция стволовых клеток поддерживает свою численность на постоянном уровне.

В процессе дифференцировки клеток происходит долговременное отключение значительных районов генома, что обеспечивается метилированием (присоединением CH_3 -групп) и ацетилизацией (присоединением CH_3CO -групп) как ДНК, так и гистонов. Эти модификации хроматина фиксируют достигнутый клетками уровень зрелости и делают необратимым процесс дифференцировки.

Таким образом, текущая дифференцировка клеток контролируется ограниченным набором сигнальных путей, действие которых реализуется через межклеточные коммуникации. Долговременное, сохраняющееся в ряду клеточных поколений специализированное состояние клеток обеспечивается химическими и структурными модификациями хроматина. Избирательная модификация хроматина является основой **эпигенетической наследственности**.

3. Механизмы клеточной регенерации и адаптации. Способность клетки или ткани восстанавливать утраченные части называется **регенерацией**. В зависимости от уровня ее реализации регенерация подразделяется на **внутриклеточную регенерацию** и **регенерацию на клеточном уровне**. Внутриклеточная регенерация – восстановление старых, разрушившихся в процессе функционирования органелл, а также поврежденных частей клетки.

В зависимости от назначения регенераторного процесса регенерация подразделяется на **физиологическую** и **репаративную (посттравматическую)**. Физиологическая регенерация – это восстановление старых, изношенных, подлежащих элиминации и замене компонентов клетки или целых клеток. Репаративная регенерация (лат. **reparatio** - восстановление) – восстановление клеток после повреждения. В этих случаях наряду с регенераторным процессом, как правило, происходят и **компенсаторные, адаптивные** изменения в клетке, направленные на уменьшение последствий возможного повторного повреждения (лат. **compensatio** – возмещение, наращивание; **adaptatio** – приспособление). Если в результате регенераторного процесса в клетке увеличивается количество органелл, это явление называется **гиперплазией** органелл. В том случае, если количество органелл остается неизменным,

но увеличиваются их размеры, этот процесс обозначается как **гипертрофия** органелл. Может наблюдаться также сочетание гипертрофии и гиперплазии органелл. Гипертрофии и гиперплазии в большей степени подвергаются те органеллы, которые отвечают за выполнение специфических функций данной клетки. Параллельно с изменениями органелл происходит увеличение объема гиалоплазмы. В результате указанных изменений клетка увеличивается в размерах (**гипертрофия клетки**) и становится менее чувствительной к действию вредных факторов и более приспособленной к выполнению своих специфических функций.

Клеточная регенерация представляет собой регенерацию ткани за счет деления стволовых клеток путем митоза.

Контрольные вопросы

1. Какие различают типы стволовых клеток по их потенциалу развития?
2. Перечислите основные разновидности стволовых клеток человека.
3. Что такое дифферон?
4. Назовите основные типы регенерации клеток и тканей.

Лекция 16. ФИЗИОЛОГИЯ КЛЕТКИ

1. Транспорт веществ через плазмолемму.
2. Секреция.
3. Двигательные реакции клеток.

1. Транспорт веществ через плазмолемму. Для поддержания жизнедеятельности клетка должна постоянно обмениваться с окружающей средой веществами и энергией. Поэтому она представляет собой открытую систему. Но не все вещества могут свободно перемещаться через плазмолемму благодаря её избирательной проницаемости.

В зависимости от размера перемещаемых молекул различают:

- **транспорт малых молекул: диффузия** (простая и облегченная); **активный транспорт** (натрий-калиевый, протонный и кальциевый насосы, транспортер глюкозы);
- **транспорт крупных молекул: транспорт в мембранной упаковке** (эндоцитоз, экзоцитоз).

Простая диффузия. Движение веществ происходит в обоих направлениях по градиенту концентрации или электрохимическому градиенту, не требует затрат энергии, низкоспецифичен и может идти либо путём простой диффузии через мембрану (по бесканальному пути), либо по ионным каналам, но без участия специализированных белков-переносчиков. Бесканальным способом перемещаются мелкие незаряженные молекулы, свободно проникающие через билипидный слой плазмолеммы (например, кислород, азот, углекислый газ). Молекулы воды тоже могут проходить

этим путём, но скорость такого движения невелика. В некоторых клетках (например, нейронах) простая диффузия происходит через ионные каналы. Они представляют собой белковую молекулу, состоящую из нескольких субъединиц, или комплекс молекул, и образуют в плазмолемме сквозную пору. Через такие каналы перемещаются наиболее важные для клетки ионы: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- .

Облегчённая диффузия в отличие от простой, более специфична и происходит только при участии ионных каналов и белков-переносчиков, но без затрат энергии. В ионных каналах имеется *воротный механизм*, который открывает либо закрывает канал. Этот механизм может быть *потенциалзависимым*, срабатывающим при изменении мембранного потенциала; *лигандзависимым*, реагирующим на связывание лиганда с поверхностным рецептором; *G-белок-зависимым*; *механозависимым*, реагирующим на деформацию (например, механорецепторные нейроны, сенсоэпителиальные клетки внутреннего уха); *Ca^{2+} -зависимым*. Облегченная диффузия при помощи *белков-переносчиков* описывается моделью *«пинг-понг»*. В соответствии с ней, белки-переносчики могут находиться в двух состояниях: 1) образуют «чашу» (воронку), открытую в сторону веществ, требующих переноса; 2) «чаша» обращена в сторону цитоплазмы. Переход между двумя этими позициями происходит путём конформационных изменений белков-переносчиков. Известно большое количество белков-переносчиков, которые отвечают за облегчённую диффузию. Например, для диффузии глюкозы в геноме человека закодировано двенадцать таких белков из группы глюкозных транспортёров (GLUT). Например, GLUT3 отвечает за поступление глюкозы в нейроны. Причём, в отличие от большинства других клеток, такой транспорт не зависит от инсулина. GLUT5 обеспечивает поступление глюкозы из кишечника в клетки кишечного эпителия, GLUT2 переносит её из указанных клеток в соединительную ткань слизистой оболочки тонкой кишки. *Аквапорины* (водные каналы) представляют собой специализированные ионные каналы, которые обеспечивают быстрое перемещение молекул воды через плазмолемму. Особенно велико их количество в канальцах нефронов и собирательных трубочках почек. По направлению транспорта и количеству переносимых веществ различают *унипорт* и *котранспорт*. Последний в свою очередь подразделяется на *симпорт* и *антипорт*. При унипорте происходит перенос молекул одного типа как в клетку, так и из неё. В ходе котранспорта перемещаются разные типы молекул в одном направлении (симпорт) или в противоположных направлениях (антипорт). Перенос может происходить либо одновременно, либо последовательно, но в эквивалентных количествах.

Активный транспорт требует затраты энергии, поскольку происходит против градиента концентрации и электрохимического градиента. Поэтому он возможен только в присутствии АТФ и специфических белков-переносчиков. Гидролиз АТФ происходит под действием ферментов –

АТФаз. Таким путём при помощи Na^+/K^+ -АТФазы, Ca^{2+} -АТФазы, H^+ -АТФазы перемещаются ионы натрия, калия, кальция, водорода.

Транспорт в мембранной упаковке. Макромолекулы перемещаются через плазмолемму путём **эндоцитоза** и **экзоцитоза**.

Эндоцитоз — это процесс поступления в клетку макромолекул из внеклеточного пространства. Перемещение твёрдых частиц через плазмолемму внутрь клетки называется **фагоцитозом**, а перемещение жидкостей — **пиноцитозом**. Фагоцитоз был открыт в 1886 г. И.И. Мечниковым, а пиноцитоз — в 1931 г. У. Льюисом. Различают рецепторно-неопосредованный и рецепторно-опосредованный эндоцитоз. При **рецепторно-неопосредованном эндоцитозе** внеклеточный объект эндоцитоза захватывается в области инвагинации плазмолеммы клетки. При этом сначала поглощаемое клеткой вещество неспецифически воздействует на поверхностные рецепторы клетки. Возбуждение передаётся на подмембранный слой микрофиламентов и вглубь цитоскелета, элементы которого создают впячивание плазмолеммы — ямку или нишу (кавеолу). Её размер — около 50–80 нм. В кавеолу поступает поглощаемое вещество, она углубляется, затем её края смыкаются при помощи **фузионных белков** — специальных белков слияния, расположенных в плазмолемме. Далее образовавшийся пузырек (**ранняя эндосома**) отделяется от основной мембраны и мигрирует вглубь клетки. Если в нём находится твёрдая частица, он называется **фагосомой**, если жидкость с растворёнными в ней веществами — **пиноцитозным пузырьком**. Фагосома может сливаться с первичными лизосомами, образуя **фаголизосому**. **Рецепторно-опосредованный эндоцитоз** происходит при участии поверхностных рецепторов клетки, которые **специфически** связывают молекулы объекта эндоцитоза, выступающие в качестве лиганда. Эндоцитоз с участием рецепторов идёт примерно в 1000 раз быстрее. При таком способе эндоцитоза рецепторы очень часто совершают латеральную миграцию и скапливаются в области образующихся эндоцитозных ямок. Этот процесс называется **кэппингом**. В то же время вокруг эндоцитозных ямок накапливается **клатрин** или другие белки, которые образуют сетевидную оболочку. В результате образуются **окаймленные пузырьки**. Клатриновая оболочка препятствует их слиянию с лизосомами и другими клатриновыми пузырьками. Таким образом, происходит их депонирование в клетке на длительное время. Их содержимое может подвергаться превращению внутри клетки только после утраты клатриновой оболочки. Окаймленные пузырьки служат для транспорта иммуноглобулинов, факторов роста, липопротеинов низкой плотности, желточных включений в ооците и ряда других веществ. В них также находится большое количество клеточных рецепторов. Поскольку мембрана таких пузырьков может при необходимости встраиваться обратно в плазмолемму, их можно рассматривать как временное депо, где аккумулируются рецепторы. Примером рецепторно-опосредованного эндоцитоза служит фагоцитоз лейкоцитом бактерий, окруженных антителами. Иммуноглобулины (**опсонины**) выступают в качестве лигандов, с которы-

ми взаимодействуют поверхностные рецепторы фагоцита. Путём рецепторно-опосредованного эндоцитоза в клетку также проникают некоторые вирусы (полиомиелита, инфекционного гепатита, ВИЧ).

Экзоцитоз – это выделение клеткой продуктов секреции или конечного обмена. Представляет собой процесс, противоположный эндоцитозу. В случае секрета, окруженные мембраной, образующиеся в комплексе Гольджи секреторные пузырьки, передвигаются при участии цитоскелета к плазмолемме и сливаются с ней. Далее секреторный пузырек раскрывается, выводя секрет за пределы клетки. Этот процесс лежит в основе **мерокринового** типа секреции желез. Секретированные вещества могут оставаться на внешней стороне клеточной мембраны в качестве рецепторов, участвовать в пищеварении (ферменты), выполнять защитные функции (слизь и другие вещества), включаться в состав межклеточного вещества, либо выполнять функции сигнальных молекул (гормонов и др.) и т.д.

Пиноцитозные пузырьки могут оставаться в клетке, либо мигрировать на противоположную сторону клетки и там открываться наружу путём экзоцитоза. Этот процесс, совмещающий эндоцитоз и экзоцитоз, служит для транспорта веществ и называется **транскитозом**. Он особенно интенсивно протекает в **эндотелиоцитах** кровеносных и лимфатических сосудов.

2. Секреция. Секреция представляет собой одну из наиболее важных функций клетки. В общем виде этот процесс можно определить как синтез клеткой веществ, которые затем используются другими клетками или выводятся из организма.

В многоклеточном организме существует два вида секреции:

а) внешняя, или экзокринная – вещества по выводным протокам поступают на поверхность тела или органа или в полые органы (желудочный сок, слюна, семенная жидкость, молоко и т.д.);

б) внутренняя, или эндокринная – секреторные железы не имеют выводных протоков, вещества из клеток поступают непосредственно в кровь или лимфу (гормоны).

Способность к секреции присуща, по-видимому, широкому кругу клеток. Особенное развитие секреция получила с возникновением многоклеточности. У таких организмов возникло большое число видов секреторных клеток.

Секреты (секреторные включения), их химическая природа, функции, а также типы секреции по способу выведения секрета из клеток (мерокриновая, апокриновая, голокриновая) были нами рассмотрены в лекции «Непостоянные включения».

Несмотря на большое разнообразие химической природы секретов, в структуре, физиологии и биохимии секреторных клеток имеется много общего. Во-первых, это их топография. Секреторные клетки выстилают полости тела или располагаются по ходу кровеносных и лимфатических сосудов. Во-вторых, морфология клеток, которые имеют сильно развитый пластинчатый комплекс, секреторные включения в цитоплазме.

Роль внутриклеточных структур в секретобразовании. Среди клеточных органоидов наиболее тесно связан с секретобразованием пластинчатый комплекс. По данным Д.Н. Насонова ПК в секретирующих клетках не только изменяет свою структуру, но и локализацию (например, перемещается в апикальную часть в клетках поджелудочной железы). В конце процесса секретобразования ПК с размещенными в нем гранулами секрета сильно увеличивается в размерах и приобретает специфическую форму, которую французский ученый Р. Бовен назвал «корзинка с вишнями».

Роль различных внутриклеточных структур в секретобразовании можно проследить на примере синтеза белковых секретов. Генетическая информация о структуре секрета хранится в молекуле ДНК (в хромосоме). В результате транскрипции информация переписывается на и-РНК, которая выходит из ядра и направляется к месту биосинтеза белкового секрета. Сборка белковых молекул осуществляется с помощью рибосом, при участии т-РНК. Затем готовый белковый секрет транспортируется по каналам ЭПС к пластинчатому комплексу, где происходит формирование секреторных гранул.

Немецкий цитолог Хирш писал: «Если клетка – это фабрика, то ядро и гиалоплазма – это производственные цеха, а ПК – это конденсационный и упаковочный цех».

По такому же принципу происходит формирование лизосом в пластинчатом комплексе.

3. Двигательные реакции клеток. Двигательные реакции – одно из основных проявлений жизненной активности. В основе их лежит явление раздражимости. Формы биологического движения крайне многообразны.

1. Сокращение разного типа мышц (перемещение в пространстве высших животных, движение их внутренних органов – кишечника, матки, сердца, кровеносных сосудов).

2. Медленные движения у растений – тропизмы и настии (например, движение листьев мимозы, захлопывание листьев насекомоядного растения мухоловки, закрывание и открывание лепестков цветка и т.д.). Но, поскольку растения ведут, как правило, прикрепленный образ жизни, чаще всего их двигательная активность выражается в подвижности цитоплазмы и органоидов клетки.

3. Амебоидное движение (оно характерно для саркодовых, лейкоцитов, гистиоцитов и т.п.).

4. Движение с помощью жгутиков и ресничек (жгутиконосцы, инфузории, сперматозоиды).

Биологические двигательные реакции используются не только для перемещения организмов в пространстве. Они играют существенную роль и в ряде внутриклеточных процессов, а также в реакциях, идущих на молекулярном уровне. Например, гиалоплазма находится в непрерывном движении, а вместе с ней движутся митохондрии, лизосомы и другие органоиды. Ядро совершает медленные вращательные движения. Митохондрии

сокращаются и расслабляются в зависимости от функционального состояния клетки. Хромосомы выполняют сложные движения во время митоза. Рибосомы движутся вдоль молекулы и-РНК при биосинтезе белка. Вновь синтезированная молекула белка сходит с матрицы и совершает сложные движения при формировании вторичной и третичной структур. В процессе транскрипции и-РНК движется вдоль молекулы ДНК.

Среди различных форм биологического движения наиболее полно изучено мышечное сокращение, механизм которого будет подробно изучен в курсе физиологии человека и животных.

Но в основе любого движения лежат обратимые изменения конфигурации белковых молекул, сопровождающиеся расщеплением АТФ. Отсюда следует, что способность отвечать на внешние воздействия обратимыми двигательными реакциями присуща основному веществу протоплазмы — ее белкам.

Контрольные вопросы

1. Охарактеризуйте механизмы диффузии веществ через клеточную мембрану.
2. Охарактеризуйте механизм активного транспорта веществ через клеточную мембрану.
3. Охарактеризуйте механизм транспорта макромолекул в мембранной упаковке через клеточную мембрану.
4. Дайте характеристику основных типов секреции в многоклеточном организме.
5. Перечислите основные формы движения живых организмов и их механизмы на клеточном уровне.

Лекция 17. СТАРЕНИЕ И СМЕРТЬ КЛЕТОК

1. Старение клеток.
2. Реактивные изменения клеток. Некроз.
3. Апоптоз.
4. Пути запуска апоптоза.

1. Старение клеток. От нескольких дней до многих лет клетка выполняет свою определенную функцию в организме, а затем постепенно стареет и погибает. **Старение клеток** связано с изнашиванием структур клеток в результате длительной, интенсивной работы, прежде всего в связи с изменениями состояния генома и, как следствие, снижение интенсивности транскрипции ДНК, приводящим к угнетению биосинтеза белка. При старении изменяется объем клетки, нарушаются межклеточные контакты, уменьшается текучесть ее мембран и интенсивность транспортных и обменных процессов. В результате повреждения

рецепторов цитолеммы уменьшается возбудимость и реактивность клетки, дезорганизуется цитоскелет. Ядро клетки становится неровным, расширяется перинуклеарное пространство, увеличивается доля гетерохроматина. Митохондрии просветляются, в них уменьшается количество крист, наблюдается расширение цистерн эндоплазматической сети, уменьшение числа рибосом, происходит редукция комплекса Гольджи. Увеличивается число всех видов лизосом, включая остаточные тельца, в которых накапливаются трудно перевариваемые вещества (например, пигмент старения – липофусцин), уменьшается стабильность лизосомальных мембран, возрастает аутофагия. В результате клетка постепенно разрушается и ее остатки фагоцитируются макрофагами.

2. Реактивные изменения клеток. Некроз. Реактивные изменения клеток – это изменения структуры и функции клеток, вызванные воздействием внешних и внутренних факторов. Интенсивность этих воздействий может быть различной. Каждая клетка при любых условиях функционирования постоянно отвечает на различные по характеру и интенсивности внешние и внутренние сигналы. Наибольший интерес представляет ее реакция на сверхнормальные воздействия. Если они запредельные, клетка погибает. В том же случае, фактор не вызывает гибели клеток, то в них происходят компенсаторные изменения, направленные на уменьшение последствий вредного воздействия внешнего фактора. Эти изменения могут быть следующими:

1. Экзогенный фактор активирует деление клеток. При этом в результате увеличения числа клеток и их производных происходит распределение неблагоприятного воздействия на большее количество структур и ослабляется его повреждающий эффект. Примером может служить образование роговых мозолей при длительном интенсивном механическом воздействии на кожу ладоней и подошв. В данном случае имеет место *гиперплазия клеток*.

2. Неблагоприятный фактор воздействует на дифференцированную клетку. В такой клетке активируются биосинтетические процессы, происходит гиперплазия и гипертрофия органелл. В результате клетка увеличивается в размерах и становится менее чувствительной к действию вредного фактора. Примером является увеличение (*гипертрофия*) кардиомиоцитов и скелетных мышечных волокон у людей, интенсивно занимающихся физическим трудом.

3. Неблагоприятный фактор может привести к образованию полиплоидных и двуядерных клеток. Такие клетки имеют более крупные размеры, функционально более активны и менее чувствительны к повреждающему фактору.

4. Один из вариантов реакции клеток на внешние раздражители, обычно сочетающийся с их гипертрофией и гиперплазией – усиление метаболизма и функциональной активности клеток.

5. В ответ на действие неблагоприятного фактора может происходить увеличение клеточной поверхности и усложнение ее формы, что в определенной степени ведет к снижению интенсивности внешнего воздействия на единицу площади клетки. Как проявление реакции на внешние стимулы может активироваться фагоцитоз клеток, особенно тех, у которых он является основной функцией. Могут возрастать двигательная активность клетки и ее целенаправленная миграция (у соединительнотканых клеток). Мышечные клетки на стимуляцию ответят сокращением, нервные – нервным импульсом, секреторные – усилением выработки и выделения секрета и т.д.

6. Любые достаточно сильные внешние воздействия вызывают в клетках **стрессорные реакции**, протекающие стереотипно. При этом происходит активация определенных генов, обеспечивающих синтез специальных защитных белков при одновременной блокаде других синтетических процессов. Эти защитные белки названы **белками теплового шока (БТШ; англ. Heat Shock Proteins, HSP)**, поскольку первоначально они были обнаружены в клетках при воздействии на них высокой температуры. БТШ носят универсальный характер, обладают собственной повышенной устойчивостью и одновременно предотвращают повреждение (агрегацию, коагуляцию) других клеточных белков, способствуют расщеплению возникших патологических белковых конгломератов. Свое защитное действие эти белки осуществляют как в ядре, так и в цитоплазме клетки. Выработка БТШ активируется при лихорадке. С возрастом способность клеток к продукции БТШ снижается, чем объясняется снижение резистентности организма к внешним воздействиям и заболеваниям. Некоторые из БТШ синтезируются опухолевыми клетками, что повышает их устойчивость к химиотерапии и облучению.

7. Некроз клеток. При воздействии на клетку запредельных факторов она подвергается разрушению – **некрозу (греч. Necrosis – умирание, отмирание, смерть)**. Обычно некроз захватывает целые группы клеток. Морфологические изменения при этом характерные, затрагивают как ядра, и цитоплазму.

В цитоплазме происходят денатурация и коагуляция белков, дегенерация и разрушение органелл. Цистерны ЭПС расширяются, гранулярная ЭПС полностью лишается рибосом. Матрикс митохондрий просветляется, расширяется межмембранное пространство, в дальнейшем разрушаются кристы; в конечном итоге мембраны митохондрий разрываются и митохондрии разрушаются. Повреждаются мембраны лизосом, ферменты которых выходят в гиалоплазму и участвуют в разрушении структур цитоплазмы. Повреждение клеточных мембран связано с накоплением в гиалоплазме клетки кальция, который активирует связанные с мембранами ферменты **фосфолипазы**. В цитоплазме идет образование вакуолей – **вакуольная дистрофия**, образование нетипичных

белковых или жировых включений – **белковая, жировая дистрофия**. Активация лизосом приводит к автолизу клетки и фагоцитозу ее макрофагами.

В ядре под действием активированного лизосомального фермента ДНКазы происходит расщепление на фрагменты различной длины ядерной ДНК, что ведет к изменению расположения хроматина: он скапливается в виде крупных глыбок под ядерной оболочкой. Расщепление ядерной РНК осуществляется рибонуклеазой. В дальнейшем происходят следующие последовательные изменения ядра:

Кариопикноз – сморщивание ядра, конденсация в нем хроматина, уменьшение ядра в размерах до полного исчезновения;

Кариорексис – распад ядра на отдельные фрагменты, которые в последующем разрушаются.

Кариолизис – растворение ядра с постепенным исчезновением в нем всех структур. Ядро приобретает вид бесструктурного пузырька.

Лишенная в результате этих трех процессов ядра клетка становится нежизнеспособной и постепенно гибнет.

8. Под действием неблагоприятных факторов внешней среды в геноме клетки могут происходить мутации, которые, накапливаясь, могут привести к малигнизации (превращению нормальных клеток в злокачественные). Мутировавшие стволовые клетки и их потомки при невозможности репарации подвергаются **апоптозу**.

3. Апоптоз. Термин **апоптоз** относится к генетически контролируемому процессу дезинтеграции генома клетки с последующей ее гибелью. Следует подчеркнуть, что апоптоз является физиологическим процессом элиминации соматических клеток у многоклеточного организма, который противопоставляется митозу как универсальному способу увеличения их количества. У взрослых многоклеточных организмов число клеток поддерживается на одном уровне благодаря балансу митоза и апоптоза.

АПОПТОЗ	НЕКРОЗ
Гибели чаще подвергаются единичные клетки, расположенные в ткани мозаично	Отмечается массивная гибель клеток, расположенных в одном участке ткани (органа)
Представляет собой генетически запрограммированную физиологическую гибель клеток и используется для поддержания тканевого гомеостаза. Элиминации подвергаются стареющие, поврежденные или измененные клетки	Представляет собой патологическую гибель клеток – «смерть от несчастного случая». Погибают здоровые жизнеспособные клетки
Энергозависимый процесс, связанный с синтетическими процессами (синтез белков апоптоза)	Энергонезависимый процесс, не требует синтеза белков, опосредуется уже существующими в клетке ферментными системами.

Имеет место упорядоченное, межнуклеосомное расщепление ДНК на отдельные нуклеосомные фрагменты	Расщепление ДНК незакономерное, случайное, с образованием фрагментов разной величины
Изменения в ядре включают только кариопикноз и кариорексис	Изменения в ядре включают кариопикноз, кариолизис и кариолизис
Объем клетки уменьшается. Формируются клеточные фрагменты, содержащие компоненты цитоплазмы и ядра. Целостность плазмолеммы длительное время сохранена	В результате нарушения избирательной проницаемости плазмолеммы и последующего внутриклеточного отека объем клетки увеличивается. Имеет место разрушение плазмолеммы
Воспалительные изменения вокруг погибших клеток отсутствуют, т.к. остатки клетки быстро фагоцитируются соседними здоровыми клетками	Имеются выраженные воспалительные изменения в области очага некроза, т.к. продукты клеточного распада активируют лейкоциты и макрофаги
Отсутствует активация лизосом. Расщепление клеточных белков осуществляется каспазами	Происходит активация лизосом, расщепление белков осуществляется лизосомными протеазами

Гибель клеток путем апоптоза в различных клеточных популяциях имеет сходные морфологические проявления. В начале процесса клетки утрачивают микроворсинки и контакты с соседними клетками, округляются и отделяются от клеточного пласта. Такие цитоплазматические органеллы, как лизосомы и митохондрии, остаются при этом интактными, но в целом цитоплазма может несколько уплотняться. Затем в клеточном ядре отмечается **маргинация хроматина**, состоящая в смещении его к периферии. В результате хроматин формирует по периметру ядра глыбки с четко очерченными границами. Маргинация хроматина и образование кольца из глыбок в ядре носят название **кариорексис**. При апоптозе возможно также уплотнение и сжатие ядра, или **пикноз**.

На поздних этапах апоптоза у крупных клеток плазмалемма начинает формировать инвагинации, которые приводят к распаду клетки на **апоптотические тельца**. В дальнейшем эти тельца фагоцитируются макрофагами.

У отдельных клеточных типов морфологические проявления апоптоза могут быть выражены слабо или вообще отсутствовать. Например, у лимфоцитов маргинация хроматина приводит к формированию одного скопления в форме полумесяца или двух-трех крупных глыбок.

В сердечных мышечных клетках апоптоз происходит вообще без маргинации и конденсации хроматина. Распад клетки на апоптотические тельца также наблюдается не всегда. Несмотря на эти вариации по комплексу морфофизиологических свойств, апоптоз принципиально отличается от патологической гибели клеток, или **некроза**, для которого характерна активация лизосомальных ферментов.

Процесс клеточной гибели путем апоптоза состоит из этапов:

- **запуска;**
- **передачи сигнала в цитоплазме;**
- **фрагментации ДНК в клеточном ядре.**

4. Пути запуска апоптоза. В настоящее время различают **внешний** и **внутренний** пути запуска апоптоза.

При запуске по **внешнему пути** апоптоз инициируется молекулярными сигналами, которые распознаются рецепторными белками в плазмалемме. Примером лиганд-рецепторного комплекса, запускающего апоптоз, является пара лиганд Fas (FasL)—рецептор Fas (CD95). Лиганд Fas экспрессируется на активированных Т-лимфоцитах, способных уничтожать клетки-мишени. Он имеет молекулярную массу 46 кДа и встроен в плазмалемму в виде димера или тримера. Рецептор Fas экспрессируется на многих типах клеток, его молекулярная масса составляет 36 кДа. На цитоплазматической стороне он имеет «домен смерти» (DD), который обеспечивает связь рецептора с адаптерным белком FADD.

При связывании лиганда рецептором Fas адаптер FADD активирует специфическую протеазу каспазу-8, которая, в свою очередь, активирует каспазу-3. Последняя протеаза является ключевой для апоптоза, поскольку она переходит из цитоплазмы в ядро и запускает в нем каскад процессов, приводящих к разрушению генома клетки. К настоящему времени известно уже более десятка каспаз. Субстратами для них являются сами каспазы, ламины, топоизомеразы и белки хроматина.

Внутренний путь апоптоза запускается при необратимых повреждениях ДНК, гипоксии и окислительном стрессе. Центральная роль в нем принадлежит митохондриям, которые переключаются из режима синтеза АТФ в режим контроля апоптоза. Во внешней мембране органеллы открываются поры, через которые из межмембранного пространства выходит цитохром с и другие белки. В результате в гиалоплазме формируются особые молекулярные комплексы – **апоптосомы**, которые состоят из цитохрома с, Araf-1 (Apoptotic Protease Activating Factor-1) и каспазы-9. Апоптосомы активируют каспазу-3, которая, как и во внешнем пути, вызывает дезинтеграцию генома клетки.

Внутренний путь апоптоза регулируется белками семейства Bel 2. Это семейство представлено как проапоптотическими факторами (Bax, Bak, Bad, Bcl-Xs, Bid, Bik, Bim и Hrk), которые инициируют выход цитохрома с из митохондрий, так и антиапоптотическими факторами (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Bfl-1 и Mcl-1), препятствующими этому выходу. В конкретной ситуации развитие процесса апоптоза будет зависеть от баланса про- и антиапоптотических факторов.

Фрагментация ДНК в ядре рассматривается как конечный этап апоптоза, после начала которого гибель клетки становится необратимой. При этом сначала образуются крупные фрагменты ДНК, длина которых соответствует длине петлевых доменов хроматина. Позднее величина образующихся фрагментов снижается до 200 пар оснований, что равняется длине участка ДНК, связанного с нуклеосомами. Ступенчатую деградацию

ДНК обеспечивают ДНК-азы, ведущей из которых является специфический для апоптоза фермент **CAD (DFF40)**.

Апоптоз обеспечивает удаление клеток из нормально развивающихся и функционирующих тканей, не вызывая при этом повреждения соседних клеток и не запуская воспалительный процесс.

Контрольные вопросы

1. Опишите основные процессы, происходящие в клетке при её старении.
2. Перечислите и охарактеризуйте основные разновидности реактивных изменений клеток.
3. Опишите механизм апоптоза.
4. Назовите различия апоптоза и некроза.
5. Охарактеризуйте внешний и внутренний пути запуска апоптоза.

МОДУЛЬ 3

Лекция 18. ПОНЯТИЕ О ТКАНЯХ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

1. Понятие о тканях. Классификации тканей.
2. Общая характеристика эпителиальных тканей.
3. Морфологические и гистогенетические типы эпителиев.

1. Понятие о тканях. Классификации тканей. 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.

2. Общая характеристика эпителиальных тканей. 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 ткани.
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.

3. Морфологические и гистогенетические типы эпителиев. Морфологическая классификация эпителиев является наиболее употребительной. Её основы были разработаны еще Я. Генле (1842). 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.

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 ниж-

ней 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 нерастянutom 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).

Контрольные вопросы

1. Дайте общую характеристику эпителиальных тканей.
2. По каким признакам и как классифицируется однослойный эпителий?
3. Охарактеризуйте различные типы однослойного эпителия.
4. Каково значение эпителиальных тканей в организме?
5. Дайте характеристику переходного эпителия. Почему он так назван?

Лекция 19. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ТИПЫ ЭПИТЕЛИЕВ

1. Эпидермис и его производные.
2. Эпителий кишечника.
3. Реснитчатый эпителий.
4. Целомический эпителий
5. Железистый эпителий.
6. Экзокринные железы.
7. Эндокринные железы.

Согласно *функциональной классификации*, различают следующие виды эпителия: кожный, кишечный, реснитчатый, или мерцательный и железистый.

1. Эпидермис и его производные. Кожа млекопитающих и человека 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 при-

близости 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.

Производными кожного эпителия являются различные роговые образования: чешуи, перья, волосы. Помимо общих роговых покровов, имеются и местные: клюв, когти, ногти, рога (полорогих животных), копыта. Рассмотрим строения некоторых из них.

Волос закладывается у зародыша в виде эпидермального утолщения, а затем погружается в глубокие слои кожи. Первоначально зачаток имеет вид эпидермального цилиндра, расположенного под углом к поверхности кожи. В нижней части цилиндра появляется скопление мезенхимы, которая

врастает в основание цилиндра и образует зачаток волосяного сосочка. В него врастают кровеносные сосуды, которые питают волос.

Часть волоса над кожей, называется стержнем, а погруженная в нее – корнем. В нижней части корень расширяется и образует волосяную луковицу. В области луковицы находятся живые клетки, которые по мере удаления от нее ороговевают.

Корень волоса расположен в волосяной сумке, которая образована эпителием и соединительной тканью. К луковице корня прикрепляется мышца, за счет которой волос может изменять свое положение относительно кожи (ощетинивание зверя).

Наружная часть волоса (стержень) образована ороговевшими клетками. Основная масса стержня представлена корковым веществом, состоящим из плотно прилегающих роговых чешуек. Между чешуйками и внутри них находится пигмент, который окрашивает волос. Снаружи стержень покрыт кутикулой (пигмента не содержит).

Волос периодически может меняться. Это, по-видимому, связано с нарушением обмена веществ в клетках луковиц, которые подвергаются ороговению. В дальнейшем редуцирующая луковица отделяется от сосочка, а в основании волосяной сумки образуется новый волос, который растет и вытесняет остатки старого.

Коготь – это участок рогового слоя кожного эпителия, состоящий из ногтевой пластинки, ногтевого ложа, ногтевых валиков, ногтевого корня и матрицы.

Ногтевое ложе состоит из соединительной ткани и росткового слоя эпидермиса. На ногтевом ложе расположена ногтевая пластинка. Часть ногтевой пластинки, погруженная в кожу, называется корнем ногтя. На края ногтевой пластинки налегают складки кожи – ногтевые валики. Между ними и ногтевой пластинкой имеется ногтевая щель. Она особенно глубока у корня ногтя. Участок эпителия ногтевого ложа, который располагается под корнем ногтя, называется матрицей. Клетки матрицы способны к размножению и за счет их ороговения происходит рост ногтя. У человека ногтевая пластинка заменяется на новую примерно в течение 200 дней. Коготь зверей построен по такому же плану.

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) энтерохромаффинные (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.

Межклеточные контакты обеспечивают прочное соединение энтероцитов между собой. В кишечном эпителии встречаются следующие типы межклеточных контактов:

1. **Замыкательные пластинки**, расположенные в апикально-латеральных участках энтероцитов. Верхняя часть замыкательной пластинки образована **плотными контактами**, в районе которых электронно-плотные слои плазмолемм соседних клеток сливаются на протяжении 1–1,5 мкм. Плотные контакты энтероцитов (**зоны слияния**, или **zona occludens**) в виде ободка охватывают всю клетку. Ниже зоны слияния пространство между соседними клетками увеличено до 20–40 нм и заполнено электронно-плотным веществом, тогда как с внутренней стороны плазмолеммы находятся нити терминальной сети. Эта часть замыкательной пластинки называется **зоной прилипания (zona adherens)**.

2. Латеральные поверхности энтероцитов ниже замыкательных пластинок соединены между собой с помощью **простых контактов**. Плазмолеммы соседних клеток в этом типе контакта разделены электронно-

прозрачным пространством шириной 15–20 нм, содержащем компоненты гликокаликса.

3.Энтероциты могут быть связаны между собой также **контактами наподобие замка**, представляющими собой взаимодополняющие складки плазмолеммы.

4.Латеральные поверхности энтероцитов могут скрепляться **щелевидным контактом (nexus)**, в которых плазмолеммы на протяжении 0,5–3 мкм разделены пространством шириной 3 нм. В образующих нексус участках плазмолеммы наблюдается гексагональная упаковка белковых глобул размером 7 нм с центральным каналом диаметром 1–2,5 нм. По этим каналам осуществляется межклеточный транспорт низкомолекулярных веществ. Щелевидные контакты распространены не только в эпителиальных, но и в других тканях.

5.В кишечном эпителии могут также встречаться **десмосомы**. Они представляют собой участки плазмолеммы соседних клеток, которые укреплены как снаружи, так и внутри электронно-плотным веществом, формирующим диск или поясок вокруг клетки. Со стороны цитоплазмы к диску подходят пучки тонофиламентов.

6.К подлежащей базальной пластинке эпителиальные клетки прикреплены с помощью **гемидесмосом (полудесмосом)**, которые имеют структуру половины десмосомы с дополнительным, богатым липидами слоем между диском и базальной пластинкой.

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, выстилая 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 автордиографического 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 **энтерохромаффинные (энтерозндокринные) клетки**. От других энтероцитов они отличаются аргирофильными секреторными гранулами, локализованными в базальной части клетки. Энтерохромаффинные клетки синтезируют и выделяют ряд гормонов и других биологически активных веществ – **энтерин**ов, 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 энтерохромаффинных 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.

3. Реснитчатый, или *мерцательный эпителий* выстилает полости дыхательных путей, матки, яйцеводов и т.д. На апикальной стороне клеток этого эпителия имеются тончайшие выросты – реснички, строение которых вы уже знаете из курса цитологии. Реснички способны сокращаться. Сокращение совершается ритмически и распространяется в одну сторону. При нарушении целостности эпителия движение ресничек становится беспорядочным. Сокращение происходит только во влажной среде, где создается ток жидкости в одном направлении. Приводя в движение слизь, реснички обуславливают и перемещение различных частичек: перемещение яйцеклетки по яйцеводу в сторону матки, выведение наружу пыли в дыхательных путях и т.д. По строению реснитчатый эпителий у позвоночных животных бывает призматическим и многорядным, у беспозвоночных – плоским.

4. Целомический эпителий развивается из мезодермы, и получил название *мезотелия*. Он выстилает вторичную полость – целом, которая не граничит с внешней средой. Морфологически он представлен плоским эпителием и состоит из многоугольных клеток неправильной формы. Клетки соединены между собой с помощью неровностей цитоплазматических мембран. При раздражении эпителия клетки легко выпадают из общего пласта и в образовавшиеся полости проникают фагоцитарные клетки. Они очищают очаг раздражения, после чего происходит восстановление поврежденной ткани. Следовательно, он также выполняет защитную функцию, но это происходит путем нарушения его целостности.

5. 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 нейrogenное 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 glanduloцита. **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 glanduloцита 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.

6. 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 концевого отдела с покровным эпителием.

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

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. **Макроапокриновый тип**, при котором наблюдается утрата материала апикального конца клетки (молочная железа).

3. **Микроапокриновый 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 – макроапокриновый.

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 биоло-

гически 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 гистофизиологии 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 – 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.

Контрольные вопросы

1. Какие роговые образования являются производными кожного эпителия?
2. Какое строение волоса?
3. Как происходит развитие волоса?
4. Какое строение ногтя?
5. За счет чего происходит рост ногтя?
6. Как устроена специализированная клетка железистого эпителия?
7. Охарактеризуйте стадии секреторного цикла.
8. Как классифицируются железы по способу выведения секрета из клетки?
9. Чем отличаются простые железы от сложных?

Лекция 20. ТКАНИ ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЫ. СОБСТВЕННО-СОЕДИНИТЕЛЬНАЯ ТКАНЬ

1. Общая характеристика тканей внутренней среды.
2. Рыхлая волокнистая соединительная ткань
3. Плотные соединительные ткани.
4. Специальные соединительные ткани.

1. Общая характеристика тканей 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;

Классификация тканей внутренней среды

Ткани внутренней среды	кровь и лимфа соединительные ткани:
Соединительные ткани	<u>собственно</u> соединительная ткань <u>скелетная</u> соединительная ткань
Собственно соединительная ткань	<u>Волокнистая</u> соединительная ткань соединительная ткань со <u>специальными свойствами</u>
Скелетная соединительная ткань	Хрящевая и костная ткани
Волокнистая соединительная ткань	Рыхлая волокнистая соединительная ткань Плотная волокнистая соединительная ткань
Плотная волокнистая соединительная ткань	Неоформленная волокнистая соединительная ткань Оформленная волокнистая соединительная ткань

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.

2. 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 амёбное 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 доли ядро. Цитоплазма заполнена большим количеством гранул темnofioletового 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 терминали 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 со-

стоит 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.

3. 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 α -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 (проколлаген), 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/мм².

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/см²), 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.

4. 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.

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.

Контрольные вопросы

1. Охарактеризуйте промежуточное вещество соединительной ткани.
2. Как устроена рыхлая соединительная ткань?
3. Как устроена ретикулярная ткань?
4. Как устроена плотная соединительная ткань?

Лекция 21. ХРЯЩЕВАЯ ТКАНЬ

1. Основные особенности хрящевой ткани и её роль в организме.
2. Разновидности хрящевой ткани. Надхрящница.
3. Гистогенез хрящевой ткани.

1. Основные особенности хрящевой ткани и её роль в организме.

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.

2. Разновидности хрящевой ткани. Надхрящница. 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 (**хондрины**). 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 со-

ставляет 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.

3. Гистогенез хрящевой ткани. 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** – накопления карбоната кальция. Оно проявляется в появлении базофилии ткани диффузного характера. Хрящ при этом становится ломким.

Контрольные вопросы

1. Как устроен гиалиновый хрящ?
2. Как устроен эластический хрящ?
3. Как устроен волокнистый хрящ?
4. Каково строение и значение надхрящницы?
5. Как происходит развитие хряща?
6. Каково значение хрящевой ткани?

Лекция 22. КОСТНАЯ ТКАНЬ

1. Клеточный состав костной ткани.
2. Межклеточное вещество.
3. Виды костной ткани.
4. Остеогенез.

1. Клеточный состав костной ткани. 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, остециты 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 пла-

стинчатый 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 остеокита, 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.

2. 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.

3. Виды костной ткани. 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 остеоциты 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. Остеоциты располагаются между костными пластинками, причем их отростки через особые каналцы 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 **фолькмановыми 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.

4. Остеогенез. 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 секретируют 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 остециты, 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 интен-

сивно 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.

Контрольные вопросы

1. Как устроена грубоволокнистая костная ткань?
2. Как устроена пластинчатая костная ткань?
3. Как устроено губчатое и плотное промежуточное вещество?
4. Охарактеризуйте строение надкостницы?
5. Как происходит развитие кости на месте хряща?
6. Как происходит развитие кости на месте соединительной ткани?

Лекция 23. КРОВЬ И ЛИМФА

1. Кровь и лимфа как ткани внутренней среды. Их основные особенности и роль в организме. Плазма крови.
2. Форменные элементы крови.
3. Гистогенез крови.

1. Кровь и лимфа как ткани внутренней среды. Их основные особенности и роль в организме. Плазма крови. 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 плазмócитами 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.

2. 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 плазмочиты. **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:

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.

3. Гистогенез крови. Гистогенез крови принято называть **гемопозом**. 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 гемопоза, 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 гемопоза является **метод селезеночных колоний** Тилла и МакКаллоха (1961). Принцип метода заключается в том, что мышей 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 мышах, 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-родоночальцы 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 плазмочитов). 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 миелоцитопоза, тромбоцитин-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 **клязматоза**.

Основными особенностями дифференцировки кровяных пластинок являются полиплоидизация, накопление в цитоплазме азурофильной зернистости и клязматоз.

Лимфоцитопоз. 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 μ , 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 кровоток, 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 плазмочиты. Секретируемые плазмочитами 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 плазмочиты 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 плазмочитов 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 зубной 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. Пршедшие 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.

Контрольные вопросы

1. Охарактеризуйте плазму крови.
2. Дайте классификацию лейкоцитов.
3. Что такое кровяные пластинки?
4. Охарактеризуйте кроветворение.
5. Охарактеризуйте строение лимфы.
6. Каково значение крови и лимфы?

Лекция 24. МЫШЕЧНЫЕ ТКАНИ

1. Основные особенности мышечных тканей, их классификация и роль в организме.

2. Поперечно-полосатая (скелетная) мышечная ткань.

3. Сердечная мышечная ткань.

4. Гладкая мышечная ткань.

5. Гистогенез мышечных тканей.

1. Основные особенности мышечных тканей, их классификация и роль в организме. 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:

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:

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

2. Поперечно-полосатая (скелетная) 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**. Соединительнотканые 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 **Н-полоска**. К состоящей из десмина Z-полоске с помощью α -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 **фибрилярного 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 150×3 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 усло-

виях 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**.

Белые и красные мионы млекопитающих

Свойство	Белые мионы	Красные мионы
цвет	белый	красный
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

3. 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 мионах скелетной мускулатуры. Рабочие кардиомиоциты отличаются высоким содержанием митохондрий, кристы которых располагаются вдоль оси и могут ветвиться. Саркоплазматическая сеть развита слабее, чем в мионах, 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 «волоконами 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.

4. 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.

5. 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 обрастают 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 вырастают 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.

Контрольные вопросы

1. Каково строение гладкой мышечной ткани?
2. Какие особенности строения поперечнополосатой мышечной ткани?
3. Охарактеризуйте строение скелетной мышцы.
4. Какие особенности строения поперечнополосатой мышечной ткани?
5. Как происходит развитие поперечнополосатых мышц?

Лекция 25. НЕРВНАЯ ТКАНЬ

1. Роль нервной ткани в организме.
2. Клетки нервной ткани.
3. Нервные волокна.
4. Синапсы.
5. Нервные окончания.

1. Роль нервной ткани в организме. 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 и 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).

2. 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 – **шипики**. 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.

Классификация и функции клеток нейроглии

Макроглия	Микроглия
Астроциты (формируют гематоэнцефалический барьер)	защитные функции
Эпендимоциты (выстилают желудочки и канал мозга)	
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 проницаемо-

стью, 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.

3. 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 мягкотные волокна не имеют насечек неврилеммы из-за того, что вместо леммоцитов оболочку мягкотного волокна формируют отличающиеся от них олигодендроциты мозга.

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

4. 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. До-

вольно 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 γ -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 перикарины 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.

5. 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 терминали 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 уплощенных 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

Эффекторные 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 миоцитов, к которым подходят лишённые 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 Т-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 миоцита, задерживая нервные импульсы и расслабляя мышцы. Таким образом, моторные бляшки и другие эффекторные окончания (как, например, на железистых клетках) представляют собой видоизменения химических синапсов.

Контрольные вопросы

1. Охарактеризуйте строение нейрона.
2. Дайте классификацию нейроглии.
3. Какие Вы знаете типы нервных волокон? Дайте их характеристику.
4. Как происходит связь нейронов между собой?
5. Охарактеризуйте строение концевых нервных аппаратов.
6. Что такое рефлекторная дуга?

ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

МОДУЛЬ 1

Лабораторная работа № 1 МЕТОДЫ ЦИТОЛОГИИ И ГИСТОЛОГИИ

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Какие типы микроскопов Вы знаете?
2. Как устроена механическая система светового микроскопа?
3. Как устроена оптическая система светового микроскопа?
4. Каковы основные правила работы с микроскопом?
5. Каковы правила ухода за микроскопом?
6. Что такое разрешающая способность микроскопа?
7. Каковы методы фиксации и основные фиксаторы при изготовлении постоянного препарата?
8. В какие среды можно заключать объекты при изготовлении постоянного препарата?
9. Как можно произвести обезвоживание объекта?
10. Каковы правила работы с микротомом?
11. Как происходит окрашивание срезов, наклеенных на предметное стекло? Назовите основные типы красителей.
12. Какие типы препаратов Вы знаете?

Лабораторная работа № 2 ОБЩАЯ МОРФОЛОГИЯ КЛЕТКИ. СТРОЕНИЕ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТКИ

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Как устроена цитоплазматическая мембрана?
2. Какими свойствами обладает и какие функции выполняет цитоплазматическая мембрана?
3. Каковы сходства и различия между животными и растительными клетками?
4. Перечислите и кратко охарактеризуйте типы клеточных рецепторов.
5. Перечислите и кратко охарактеризуйте классы молекул адгезии клеток.
6. Перечислите и кратко охарактеризуйте разновидности механических клеточных контактов.
7. Перечислите и кратко охарактеризуйте разновидности коммуникационных клеточных контактов.
8. Охарактеризуйте механизмы диффузии веществ через клеточную мембрану.

9. Охарактеризуйте механизм активного транспорта веществ через клеточную мембрану.
10. Охарактеризуйте механизм транспорта макромолекул в мембранной упаковке через клеточную мембрану.

Лабораторная работа № 3 **СТРОЕНИЕ ЭПС И РИБОСОМ**

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Гиалоплазма и цитоплазма. Функции гиалоплазмы. Классификация клеточных органелл по строению и функциональному назначению.
2. Локализация, особенности строения и функции гранулярной ЭПС.
3. Локализация, особенности строения и функции агранулярной ЭПС.
4. Локализация рибосом в клетке, их морфология, особенности рибосом прокариот и эукариот.
5. Каков химический состав рибосом?
6. Белоксинтезирующая система, минимальная и полная системы трансляции.
7. Охарактеризуйте этапы биосинтеза белка.

Лабораторная работа № 4 **СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ**

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Кем и когда были открыты митохондрии?
2. Какова ультраструктура митохондрий?
3. Как происходит размножение митохондрий?
4. Какие функции выполняют митохондрии в клетке?
5. Каковы особенности митохондриального генома и их белоксинтезирующей системы?
6. Охарактеризуйте гипотезы происхождения митохондрий.

Лабораторная работа № 5 **СТРОЕНИЕ ПЛАСТИНЧАТОГО КОМПЛЕКСА И ЛИЗОСОМ**

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Какова ультраструктура пластинчатого комплекса?
2. Каков химический состав пластинчатого комплекса?
3. Какие функции выполняет пластинчатый комплекс в клетке?
4. Как устроены и какие функции выполняют лизосомы?
5. Перечислите разновидности лизосом в клетке и укажите различия между ними.
6. Как устроены и какие функции выполняют пероксисомы?

Лабораторная работа № 6

СТРОЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО ЦЕНТРА И ПЛАСТИД

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Каково строение клеточного центра?
4. Какова ультраструктура центриолей?
5. Какие функции выполняет клеточный центр?
6. Как устроены хлоропласты?
7. Какие типы пластид Вы знаете?
8. Какие функции выполняют пластиды?

Лабораторная работа № 7

НЕПОСТОЯННЫЕ ВКЛЮЧЕНИЯ В КЛЕТКЕ. СТРОЕНИЕ СПЕЦИАЛЬНЫХ ОРГАНОИДОВ

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Охарактеризуйте трофические включения и их роль в клетке.
2. Охарактеризуйте пигментные включения. Какова их функция в клетках животных и растительных организмов?
3. Что такое экскреторные включения?
4. Каковы отличия секретов от экскретов?
5. Дайте классификацию непостоянным включениям цитоплазмы. Почему они так названы?
6. Назовите клетки животных и растительных организмов, для которых наиболее характерны те или иные включения?
7. Как устроены и какую функцию выполняют гладкие и поперечнополосатые миофибриллы?
8. Как устроены и какую функцию выполняют нейрофибриллы?
9. Как устроены и какую функцию выполняют тонофибриллы?
10. Как устроены и какую функцию выполняют реснички и жгутики?
11. Чем отличаются реснички от жгутиков?

МОДУЛЬ 2

Лабораторная работа № 8 СТРОЕНИЕ ЯДРА. СТРОЕНИЕ ХРОМОСОМ

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Приведите примеры клеток с различной формой и количеством ядер.
2. Что такое ядерно-плазменное отношение? В чем его смысл?
3. Как устроена ядерная оболочка?
4. Охарактеризуйте строение ядрышка.
5. Каково значение ядрышка в клетке?
6. Укажите основные физико-химические свойства кариоплазмы.
7. Какое значение ядра в жизнедеятельности клетки?
8. Какие Вы знаете типы хромосом?
9. Каково строение хромосомы?
10. Какой химический состав хромосом?
11. Каковы количественные изменения хромосом?
12. Каковы структурные изменения хромосом?
13. Как происходит репликация хромосом?
14. Каково значение хромосом в жизнедеятельности клетки?

Лабораторная работа № 9 СПОСОБЫ ДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Что такое amitotическое деление?
2. В каких случаях клетки делятся amitotически?
3. К каким результатам приводит amitotическое деление?
4. Охарактеризуйте интерфазное состояние клетки. Какие периоды интерфазы Вы знаете?
5. Почему сложное деление названо митозом или кариокинезом?
6. Охарактеризуйте последовательно все стадии митоза.
7. Чем отличается митотическое деление от amitоза?
8. Охарактеризуйте митотический цикл.
9. Опишите последовательно стадии мейоза.

МОДУЛЬ 3

Лабораторная работа № 10 ОДНОСЛОЙНЫЙ И МНОГОСЛОЙНЫЙ ЭПИТЕЛИЙ

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Дайте общую характеристику эпителиальных тканей.
2. По каким признакам и как классифицируется однослойный эпителий?
3. Охарактеризуйте различные типы однослойного эпителия.
4. Каково значение эпителиальных тканей в организме?
5. Каково строение кожного эпителия?
6. Дайте характеристику переходного эпителия. Почему он так назван?
7. Как происходит регенерация эпителия?
8. Какие роговые образования являются производными кожного эпителия?
9. Какое строение волоса?
10. Как происходит развитие волоса?
11. Какое строение ногтя?
12. За счет чего происходит рост ногтя?
13. Чем отличаются рога оленьих от полорогих?

Лабораторная работа № 11 ЖЕЛЕЗИСТЫЙ ЭПИТЕЛИЙ. ПРОИЗВОДНЫЕ ЭПИТЕЛИЯ

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Как устроена специализированная клетка железистого эпителия?
2. Охарактеризуйте стадии секреторного цикла.
3. Как классифицируются железы по способу выведения секрета из клетки?
4. Чем отличаются простые железы от сложных?
5. Какое строение имеют сложные железы?
6. Какова биологическая роль секретов в организме?

Лабораторная работа № 12 СОБСТВЕННО-СОЕДИНИТЕЛЬНАЯ ТКАНЬ. КРОВЬ И ЛИМФА

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Охарактеризуйте плазму крови.
2. Дайте классификацию лейкоцитов.
3. Что такое кровяные пластинки?
4. Охарактеризуйте кроветворение.
5. Охарактеризуйте строение лимфы.
6. Каково значение крови и лимфы?
7. Охарактеризуйте промежуточное вещество соединительной ткани.
8. Как устроена рыхлая соединительная ткань?
9. Как устроена ретикулярная ткань?
10. Как устроена плотная соединительная ткань?

11. Почему кровь и рыхлая соединительная ткань считаются единой системой?
12. Что такое ретикулоэндотелиальная система?

Лабораторная работа № 13 **ХРЯЩЕВАЯ ТКАНЬ. КОСТНАЯ ТКАНЬ**

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Как устроен гиалиновый хрящ?
2. Как устроен эластический хрящ?
3. Как устроен волокнистый хрящ?
4. Каково строение и значение надхрящницы?
5. Как происходит развитие хряща?
6. Каково значение хрящевой ткани?
7. Как устроена грубоволокнистая костная ткань?
8. Как устроена пластинчатая костная ткань?
9. Как устроено губчатое и плотное промежуточное вещество?
10. Охарактеризуйте строение надкостницы?
11. Как происходит развитие кости на месте хряща?
12. Как происходит развитие кости на месте соединительной ткани?
13. Каково значение костной ткани?

Лабораторная работа № 14 **МЫШЕЧНАЯ ТКАНЬ**

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Каково строение гладкой мышечной ткани?
2. Какие особенности строения поперечнополосатой мышечной ткани?
3. Охарактеризуйте строение скелетной мышцы.
4. Какие особенности строения поперечнополосатой мышечной ткани?
5. Как происходит развитие поперечнополосатых мышц?
7. Каково значение мышечной ткани?

Лабораторная работа № 15 **НЕРВНАЯ ТКАНЬ**

Вопросы для подготовки к занятию.

1. Охарактеризуйте строение нейрона.
2. Дайте классификацию нейроглии.
3. Какие Вы знаете типы нервных волокон? Дайте их характеристику.
4. Как происходит связь нейронов между собой?
5. Охарактеризуйте строение концевых нервных аппаратов.
6. Что такое рефлексорная дуга?

РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

ТЕСТЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Цитология – это:
 - а) наука о клетках;
 - б) наука о тканях;
 - в) наука о клетках животных;
 - г) наука о развитии живых организмов.
2. Термин «клетка» впервые употребил:
 - а) Г. Галилей в 1610 г.;
 - б) Р. Гук в 1839 г.;
 - в) А. ван Левенгук в 1674 г.;
 - г) Р. Гук в 1665 г.
3. Одноклеточные организмы были открыты:
 - а) М. Мальпиги;
 - б) А. ван Левенгуком;
 - в) Я. Пуркине;
 - г) К. Бэр.
4. Клеточное ядро в растительных клетках впервые описал:
 - а) Я. Пуркине;
 - б) Р. Броун;
 - в) Т. Шванн;
 - г) Р. Вирхов.
5. Клеточная теория впервые сформулирована:
 - а) в 1665 г.;
 - б) в 1831 г.;
 - в) в 1839 г.;
 - г) в 1931 г.
6. Электронный микроскоп был изобретен:
 - а) в 30-х годах 19-го века;
 - б) в 30-х годах 20-го века;
 - в) в начале 20-го века;
 - г) в 21-м веке.
7. К прокариотам относятся:
 - а) бактерии и цианобактерии;
 - б) протисты и бактерии;
 - в) грибы и цианобактерии;
 - г) растения и животные.

8. Эукариотическими клетками обладают:

- а) грибы и растения;
- б) растения и цианобактерии;
- в) животные и протисты;
- г) бактерии и грибы.

9. Нуклеоид имеется у:

- а) бактерий;
- б) грибов;
- в) цианобактерий;
- г) растений.

10. К одномембранным органоидам относятся:

- а) рибосомы и лизосомы;
- б) ЭПС, комплекс Гольджи и лизосомы;
- в) митохондрии, ЭПС и пластиды;
- г) клеточный центр, рибосомы и ядро.

11. К немембранным органоидам относятся:

- а) рибосомы и клеточный центр;
- б) рибосомы, лизосомы и ЭПС;
- в) клеточный центр и митохондрии;
- г) лизосомы и рибосомы.

12. К двумембранным органоидам относятся:

- а) рибосомы, лизосомы, ядро;
- б) митохондрии, пластиды, ЭПС;
- в) пластиды, ЭПС, комплекс Гольджи;
- г) митохондрии, пластиды, ядро.

13. Реакционные пространства, на которые разделена внутренними мембранами цитоплазма эукариотических клеток, называются:

- а) мезосомы;
- б) компартменты;
- в) микрофиламенты;
- г) апартменты.

14. Цитоплазматическая мембрана прокариотических клеток образует впячивания внутрь цитоплазмы, которые называются:

- а) мезосомы;
- б) микроворсинки;
- в) компартменты;
- г) микротрубочки.

15. Растительная клетка отличается от животной наличием:

- а) ядра, хлоропластов и крупной вакуоли;
- б) митохондрий, пластид и рибосом;
- в) клеточной стенки, хлоропластов и центральной вакуоли;
- г) пластид, центриолей и вакуолей.

16. Сходство клеток растений и животных заключается в наличии:

- а) клеточной стенки, цитоплазмы и ядра;
- б) плазматической мембраны, цитоплазмы и ядра;
- в) ядра, вакуолей и центриолей;
- г) плазмалеммы, митохондрий, клеточного центра и пластид.

17. Кем и когда предложена жидкостно-мозаичная модель строения мембраны?

- а) Т. Шваном и М. Шлейденом в 1839 г.;
- б) Даусоном и Даниели в 1935 г.;
- в) С. Зингером и Д. Николсоном в 1972 г.

18. Молекулы липидов в билипидном слое мембраны ориентированы следующим образом:

- а) гидрофильными головками наружу, гидрофобными хвостиками внутрь;
- б) гидрофильными головками внутрь, гидрофобными хвостиками наружу;
- в) молекулы расположены беспорядочно.

19. По своему расположению мембранные белки подразделяются на:

- а) основные и кислые;
- б) периферические, полуинтегральные и интегральные;
- в) структурные и регуляторные.

20. Полисахаридный слой, покрывающий сверху плазмалемму животной клетки, называется:

- а) кутикулой;
- б) матриксом;
- в) гликокаликсом;
- г) стромой.

21. Гликокаликс характерен для:

- а) растительных клеток;
- б) животных клеток;
- в) клеток бактерий.

22. В распознавании клеткой факторов внешней среды, а также во взаимном узнавании клеток принимают прямое участие:

- а) гиалоплазма;
- б) липопротейны плазмалеммы;
- в) разветвленные цепи полисахаридов, выступающие из клеточной мембраны;
- г) фосфолипиды плазматической мембраны.

23. Виды контактов межклеточного сцепления:

- а) плотный (замыкающий) контакт;
- б) щелевые, плазмодесмы, синаптические;
- в) простые, зубчатые, десмосомные.

24. Десмосомы – это:

- а) фибриллярные утолщения между мембранами соседних клеток;
- б) фибриллярные утолщения на наружной поверхности мембран соседних клеток;
- в) фибриллярные утолщения на внутренней поверхности мембран соседних клеток.

25. Какой из контактов межклеточного сцепления самый прочный?

- а) простой;
- б) десмосомный;
- в) зубчатый.

26. Виды коммуникационных контактов:

- а) щелевые, плазмодесмы и синаптические;
- б) простые и зубчатые;
- в) десмосомные и изолирующие.

27. Какие из коммуникационных контактов характерны для животных клеток?

- а) щелевые;
- б) плазмодесмы;
- в) синаптические.

28. Коннексоны входят в состав:

- а) зубчатого контакта;
- б) синаптического контакта;
- в) щелевого контакта.

29. Какой из коммуникационных контактов односторонний?

- а) щелевой;
- б) плазмодесмы;
- в) синаптический.

30. Какие вещества чаще всего служат медиаторами у позвоночных животных?

- а) ацетилхолин;
- б) иммуноглобулин;
- в) норадреналин.

31. Кем и когда был открыт фагоцитоз?

- а) И.И. Мечниковым в 1886 г.;
- б) У. Льюисом в 1931 г.;
- в) В. Флемингом в 1875 г.

32. Поглощение клеткой капель жидкости – это:

- а) фагоцитоз;
- б) пиноцитоз;
- в) экзоцитоз.

33. Цитоплазма – это:

- а) все внутреннее содержимое клетки;
- б) внутреннее содержимое клетки, за исключением ядра;
- в) внутреннее содержимое клетки, за исключением ядра, органоидов включения.

34. По физико-химическим свойствам гиалоплазма представляет собой:

- а) истинный раствор;
- б) коллоидный раствор;
- в) твердое вещество.

35. В состав цитоскелета входят:

- а) белки, липиды и полисахариды;
- б) целлюлоза, гемицеллюлоза и пектин;
- в) микротрабекулярная система, микротрубочки и микрофиламенты.

36. ЭПС подразделяется на:

- а) простую и сложную;
- б) гранулярную и агранулярную;
- в) белковую и липидную.

37. Структурными элементами ЭПС являются:

- а) центриоли, состоящие из микротрубочек;
- б) цистерны, каналы и вакуоли;
- в) большая и малая субъединицы.

38. Ультраструктура рибосом включает в себя:

- а) цистерны, канальцы и вакуоли;
- б) две центриоли, расположенные под углом 90° ;
- в) две субъединицы - большую и малую.

39. Химический состав рибосом:

- а) белки, липиды и ферменты;
- б) р-РНК и белки;
- в) белки тубулин и динеин.

40. Что такое полисома?

- а) это группа рибосом, нанизанная на нить п-РНК;
- б) это группа рибосом, нанизанная на молекулу ДНК;
- в) это рибосомы, расположенные на каналах гранулярной ЭПС.

41. Где образуются рибосомы?

- а) в митохондриях;
- б) в пластидах;
- в) в ядрышке;
- г) в пластинчатом комплексе.

42. Какой клеточный органоид способен к почкованию?

- а) ЭПС;
- б) рибосомы;
- в) клеточный центр;
- г) комплекс Гольджи.

43. Какой клеточный участвует в образовании базальных телец жгутиков и ресничек?

- а) рибосомы;
- б) митохондрии;
- в) ЭПС;
- г) клеточный центр.

44. Какой органоид принимает участие в формировании акросомы сперматозоида?

- а) ЭПС;
- б) пластинчатый комплекс;
- в) митохондрии;
- г) рибосомы.

45. Где в хлоропласте находится хлорофилл?

- а) в мембранах тилакоидов;
- б) на внешней мембране хлоропласта;

- в) в строме;
- г) в межмембранном пространстве.

46. Световая фаза фотосинтеза осуществляется:

- а) на мембранах тилакоидов;
- б) в строме;
- в) на рибосомах;
- г) на наружной и внутренней мембранах хлоропластов.

47. В строме хлоропласта происходит:

- а) синтез АТФ;
- б) темновая фаза фотосинтеза;
- в) синтез белков;
- г) фотолиз воды.

48. Сколько микротрубочек содержится в базальном теле жгутика или реснички?

- а) 18;
- б) 27;
- в) 54;
- г) 20.

49. Что такое саркомер?

- а) это участок миофибриллы между двумя мезофрагмами;
- б) это участок миофибриллы между двумя телофрагмами;
- в) это участок миофибриллы между двумя I-дисками.

50. Какие миофиламенты входят в состав изотропного диска миофибриллы?

- а) актиновые;
- б) миозиновые;
- в) актиновые и миозиновые.

51. Какой эпителий называется однослойным?

- а) у которого не все клетки связаны с базальной мембраной;
- б) у которого все клетки связаны с базальной мембраной;
- в) у которого часть клеток связана с базальной мембраной;
- г) кожный.

52. Для эпителиальной ткани характерно:

- а) клетки отделены друг от друга;
- б) много промежуточного вещества;
- в) клетки плотно прилегают друг к другу;
- г) клетки не образуют сплошного пласта.

53. Многорядный однослойный эпителий состоит из:

- а) плоских клеток;
- б) кубических клеток;
- в) клеток разной формы и высоты;
- г) цилиндрических клеток.

54. Из каких зон состоит кожный эпителий позвоночных?

- а) ростковой, зоны зернистых и блестящих клеток и роговой;
- б) ростковой и шиповатой;
- в) ростковой, шиповатой и поверхностной;
- г) ростковой и роговой.

55. За счет чего роговая зона кожного эпителия сохраняет постоянную толщину?

- а) за счет деления шиповатых клеток;
- б) за счет размножения клеток базального слоя;
- в) за счет размножения клеток зернистой зоны;
- г) за счет размножения клеток блестящей зоны.

56. Волос у зародыша закладывается:

- а) в соединительной ткани кожи;
- б) эпидермисе;
- в) эпидермисе и соединительной ткани.

57. Волосная сумка образована тканями:

- а) соединительной и мышечной;
- б) эпителиальной и мышечной;
- в) эпителиальной и соединительной.

58. Чем образован стержень волоса?

- а) живыми клетками;
- б) соединительнотканными клетками;
- в) ороговевшими клетками;
- г) живыми эпителиальными клетками.

59. Что такое матрица ногтя?

- а) это часть ногтевой пластинки, погруженная в кожу;
- б) это складки кожи, налегающие на ногтевую пластинку;
- в) это участок эпителия, расположенный под корнем ногтя;
- г) это ногтевое ложе.

60. По строению кишечный эпителий:

- а) многослойный;
- б) низкий призматический;

- в) многорядный;
- г) высокий призматический.

61. Целомический эпителий развивается из:

- а) эктодермы;
- б) мезодермы;
- в) энтодермы;
- г) мезодермы и энтодермы.

62. Простые многоклеточные экзокринные железы это:

- а) выделяющие секрет в кровь;
- б) имеющие разветвленный выводной проток;
- в) имеющие неразветвленный выводной проток;
- г) имеющие секреторный отдел в виде трубки.

63. Какие многоклеточные экзокринные железы называют сложными?

- а) с разветвленным секреторным отделом;
- б) с трубчатым секреторным отделом;
- в) с альвеолярно-трубчатым секреторным отделом;
- г) с разветвленным выводным протоком.

64. Какой тип секреции называется мерокриновым?

- а) секрет выделяется без разрушения клетки;
- б) секрет выделяется с частью цитоплазмы;
- в) секрет выделяется с полным разрушением клетки;
- г) секрет выделяется с нарушением апикальной части клетки.

65. Какой тип секреции называется голокриновым?

- а) секрет выделяется без разрушения клеток;
- б) в секрет превращается вся клетка;
- в) секрет выделяется с разрушением микроворсинок клетки;
- г) секрет выделяется с частью цитоплазмы.

66. Какова общая характерная особенность тканей внутренней среды?

- а) клетки плотно прилегают друг к другу;
- б) клетки не образуют сплошного пласта;
- в) отсутствие промежуточного вещества;
- г) клетки полярны.

67. Какие функции выполняет плазма крови?

- а) перенос кислорода;
- б) перенос питательных веществ и участие в свертывании крови;
- в) вынос углекислоты;
- г) переваривание инородных частиц.

68. Назовите разновидность ткани относящейся к собственно соединительной?

- а) кровь;
- б) ретикулярная ткань;
- в) гладкомышечная ткань;
- г) эпителиальная ткань.

69. Назовите источники развития собственно соединительной ткани?

- а) эктодерма;
- б) мезодерма;
- в) энтодерма;
- г) энтодерма и мезодерма.

70. Какой морфофункциональный признак характерен для собственно соединительной ткани?

- а) клетки образуют пласт;
- б) развиваются из энтодермы;
- в) выполняют функцию сокращения;
- г) содержат много межклеточного вещества.

71. В состав каких органов входит плотная эластическая собственно соединительная ткань

- а) кожи;
- б) скелетных мышц;
- в) связок;
- г) хряща.

72. В состав каких органов входит ретикулярная ткань?

- а) сосудов;
- б) красного костного мозга;
- в) желтого костного мозга;
- г) скелетных мышц.

73. Какие функции выполняют фибробласты?

- а) фагоцитоз;
- б) образование антител;
- в) образование основного аморфного вещества;
- г) выведение вредных веществ.

74. Какие функции выполняют гистиоциты?

- а) фагоцитоз;
- б) образование рубцовой ткани;
- в) образование основного аморфного вещества;
- г) продукция антител.

75. Определите функцию плазматических клеток?

- а) продукция антител;
- б) фагоцитоз;
- в) образование межклеточного вещества;
- г) выведение вредных веществ.

76. Как происходит питание хрящевой ткани?

- а) за счет кровеносных сосудов;
- б) диффузно через надхрящницу;
- в) диффузно и за счет кровеносных сосудов.

77. Что такое изогенная группа клеток?

- а) это клетки в зоне молодого хряща;
- б) это клетки, образующиеся при делении фибробластов;
- в) это группы из 3–5 клеток, образующиеся в результате деления одной клетки;
- г) это группы из 6–7 клеток.

78. Какой хрящ полупрозрачен?

- а) волокнистый;
- б) гиалиновый;
- в) эластический;
- г) волокнистый и гиалиновый.

79. Какие волокна входят в состав промежуточного вещества гиалинового хряща?

- а) эластические;
- б) ретикулярные;
- в) коллагеновые;
- г) коллагеновые и эластические.

80. Что происходит в результате обызвествления хряща?

- а) становится мягким;
- б) становится упругим;
- в) становится хрупким и ломким;
- г) становится мягким и упругим.

81. Какой хрящ имеет желтый цвет?

- а) гиалиновый;
- б) эластический;
- в) гиалиновый и эластический;
- г) волокнистый.

82. Какие волокна входят в состав промежуточного вещества эластического хряща?

- а) коллагеновые и ретикулярные;
- б) коллагеновые и эластические;
- в) ретикулярные и эластические;
- г) только эластические.

83. Чем отличается волокнистый хрящ от гиалинового?

- а) в его составе есть эластические волокна;
- б) коллагеновые волокна собраны в пучки;
- в) коллагеновые волокна расположены поодиночке в виде сети;
- г) в его составе есть коллагеновые и эластические волокна.

84. Из какого зародышевого материала развивается хрящевая ткань?

- а) эктодермы;
- б) мезенхимы;
- в) энтодермы;
- г) энтодермы и мезенхимы.

85. Что придает твердость костной ткани?

- а) костные клетки;
- б) промежуточное вещество;
- в) остеобласты;
- г) остеобласты и остеоциты.

86. Какую форму имеют остеоциты?

- а) овальную;
- б) веретеновидную;
- в) звездчатую;
- г) пирамидальную.

87. Как располагаются коллагеновые фибриллы в грубоволокнистой костной ткани?

- а) вдоль кровеносных сосудов;
- б) в различных направлениях без видимого порядка;
- в) в одном направлении;
- г) в сторону наибольшего давления на кость.

88. В состав скелета каких животных входит грубоволокнистая костная ткань?

- а) низших позвоночных и зародышей высших позвоночных;
- б) высших позвоночных;
- в) высших позвоночных и их зародышей;
- г) низших и высших позвоночных.

89. Чем образованы кристаллы оксиапатита?

- а) органическими веществами;
- б) органическими и неорганическими веществами;
- в) фосфорными и углекислыми солями кальция;
- г) фосфорными и углекислыми солями калия.

90. Что такое декальцинированная кость?

- а) это кость, протравленная органическими кислотами;
- б) это кость, прокаленная на огне;
- в) это кость, протравленная неорганическими кислотами;
- г) это кость, выдержанная в органических или неорганических кислотах.

91. Почему кости старых людей более хрупкие и легко подвергаются переломам?

- а) в связи с увеличением содержания неорганических солей;
- б) в связи с увеличением содержания органических соединений;
- в) в связи с увеличением содержания неорганических кислот;
- г) в связи с уменьшением содержания неорганических солей.

92. Как располагаются перекладины в губчатом промежуточном веществе?

- а) по ходу кровеносных сосудов;
- б) в сторону наибольшего давления на кость;
- в) в различных направлениях, но толстые ориентированы в сторону наибольшего давления на кость.

93. Чем определяется направление пластинок в плотном промежуточном веществе?

- а) расположением клеток;
- б) формой кости;
- в) направлением кровеносных сосудов;
- г) размерами кости.

94. Что такое остеон?

- а) это костная клетка;
- б) это система наружных генеральных пластинок;
- в) это гаверсов канал с расположенными вокруг него расширяющимися кругами пластинками;
- г) это костная клетка с расположенными вокруг нее пластинками.

95. Какие пластинки называются вставочными?

- а) которые располагаются вокруг гаверсова канала;
- б) которые располагаются с наружной поверхности кости;

- в) которые располагаются с внутренней поверхности кости;
- г) которые заполняют промежутки между остеонами.

96. В каком слое надкостницы проходят нервы и кровеносные сосуды?

- а) в наружном;
- б) внутреннем;
- в) в наружном и внутреннем;
- г) в диафизе в наружном, в эпифизах во внутреннем.

97. Какая мышечная ткань участвует в перемещении организма в пространстве?

- а) гладкая;
- б) поперечнополосатая;
- в) сердечная;
- г) гладкая и поперечнополосатая.

98. Чем отличается сердечная мышечная ткань от других мышечных тканей?

- а) наличием миофибрилл;
- б) наличием общих органоидов;
- в) наличием вставочных пластинок;
- г) наличием гликогена.

99. Какой структурой образовано тигроидное вещество?

- а) пластинчатым комплексом;
- б) скоплением рибосом;
- в) гранулярной эндоплазматической сетью;
- г) скоплением лизосом.

100. Чем отличается мякотное нервное волокно от безмякотного?

- а) отсутствием миелина;
- б) наличием шванновских клеток;
- в) наличием миелина;
- г) наличием нескольких осевых цилиндров.

ИТОГОВЫЙ КОНТРОЛЬ

ВОПРОСЫ К ЗАЧЕТУ

(для специальности 6-05-0521-01 Экология)

1. Цитология как наука. История развития цитологии и гистологии. Связь цитологии и гистологии с другими науками.
2. Основные методы исследования клетки.
3. Типы цитологических препаратов. Методика приготовления временных и постоянных препаратов.
4. Клеточная теория. Историческое развитие и значение клеточной теории.
5. Сходства и различия в строении животных и растительных клеток.
6. Особенности организации клеток одноклеточных организмов.
7. Цитоплазматическая мембрана. Химический состав, строение, свойства и функции наружной цитоплазматической мембраны. Этапы развития исследований мембран: липидная, «бутербродная» и жидкостно-мозаичная модели. Типы подвижности молекул в биомембране.
8. Дополнительные структуры поверхности клеток.
9. Характер соединения мембранных структур.
10. Особенности строения клеточной оболочки растений.
11. Явления фаго- и пиноцитоза и их значение.
12. Механизмы прохождения веществ через клеточные мембраны.
13. Гиалоплазма. Цитоскелет. Микротрубочки. Микрофиламенты.
14. Эндоплазматическая сеть и ее типы. Строение и функции ЭПС.
15. Строение, химический состав и функции рибосом. Синтез белка в гиалоплазме. Этапы трансляции.
16. Химический состав и структура микротрубочек. Ультраструктура клеточного центра, веретена деления, ресничек и жгутиков.
17. Строение и функции пластид. Вакуоли растительных клеток.
18. Химический состав, ультраструктура и функции митохондрий. Геном и белоксинтезирующая система митохондрий, эндосимбиотическая теория их происхождения.
19. Строение, химический состав и функции пластинчатого комплекса и лизосом. Роль лизосом в специализированных клетках. Пероксисомы и глиоксисомы.
20. Специальные органоиды клеток и их классификация.
21. Миофибриллы, их химическая и субмикроскопическая организация.
22. Непостоянные включения в клетке. Трофические включения и их функции.
23. Секреторные включения, их химическая природа и функции. Роль внутриклеточных структур в образовании секретов. Типы секреции. Экскреторные включения.

24. Ядро. Общая морфология и основные структуры. Ядерно-плазменное отношение. Строение ядерной оболочки. Кариоплазма. Строение и функции ядрышка.

25. Хромосомы. Число и морфология хромосом. Ультраструктура хромосом.

26. Хромосомы. Число и морфология хромосом. Ультраструктура. Химический состав. Кариотип. Структурные и количественные изменения кариотипа. Половые хромосомы.

27. Клеточный (митотический цикл). Регуляция клеточного цикла. Типы митоза.

28. Характеристика интерфазы. Интерфазные состояния ядер. Типы и периоды интерфазы.

29. Митоз как универсальный процесс размножения клеток эукариот. Фазы митоза, их различия у растений и животных.

30. Характеристика амитоза.

31. Эндомитоз и его значение.

32. Эндорепродукция и ее значение.

33. Мейотическое деление клеток. Типы мейоза. Стадии профазы I. Конъюгация хромосом и кроссинговер. Биологическое значение мейоза.

34. Сперматогенез. Распределение хромосом при сперматогенезе.

35. Оогенез. Распределение хромосом при оогенезе.

36. Дифференциация клеток. Роль ядра и цитоплазмы в клеточной дифференциации. Стволовые клетки. Дифферон.

37. Раздражимость клеток. Двигательные реакции клетки.

38. Нарушения дифференциации клеток, ведущие к патологическим изменениям. Злокачественный рост.

39. Старение и смерть клетки. Апоптоз как универсальный процесс элиминации клеток эукариот. Внешний и внутренний пути апоптоза.

40. Неклеточные формы жизни.

41. Предмет и методы гистологии. История развития гистологии. Связь гистологии с другими науками.

42. Определение ткани. Тканевые структуры и их компоненты.

43. Общая характеристика эпителиальных тканей (строение, функции, происхождение).

44. Морфологическая классификация эпителиальных тканей. Характеристика однослойного эпителия.

45. Гистогенетическая классификация эпителиальных тканей Н.Г. Хлопина. Роговые образования кожного эпителия. Образование и строение волоса и ногтя человека.

46. Функциональная классификация эпителиальных тканей.

Характеристика кожного, кишечного, целомического и реснитчатого эпителиев

47. Железистый эпителий. Особенности строения glanduloцитов. Классификация и строение желез. Типы секреции. Секреторный цикл.

48. Общая характеристика крови. Плазма крови и ее значение.
49. Строение и функции эритроцитов и тромбоцитов.
50. Лейкоциты, их строение и функции.
51. Классификация лейкоцитов.
52. Характеристика гранулоцитов и агранулоцитов.
53. Эмбриональное кроветворение.
54. Кроветворение во взрослом состоянии. Теории кроветворения.
55. Собственно-соединительная ткань. Общая характеристика и функции.
56. Строение и функции рыхлой волокнистой соединительной ткани.
57. Строение и функции жировой, пигментной и ретикулярной тканей.
58. Кровь и рыхлая соединительная ткань как единая система.
59. Плотная соединительная ткань; её строение и разновидности. Сухожилия и связки.
60. Общая характеристика хрящевой ткани. Строение гиалинового хряща. Надхрящница и ее значение.
61. Волокнистая и эластическая хрящевая ткань. Гистогенез хрящевой ткани и её восстановление при повреждениях.
62. Общая характеристика костной ткани. Грубоволокнистая костная ткань.
63. Строение пластинчатой костной ткани. Типы промежуточного вещества.
64. Надкостница и ее строение.
65. Развитие кости из мезенхимы.
66. Развитие кости на месте хряща. Регенерация кости. Условия правильного костеобразования.
67. Общая характеристика и классификация мышечной ткани.
68. Гладкая мышечная ткань. Ее морфология, развитие и функции.
69. Поперечнополосатая мышечная ткань. Строение и функции, развитие и регенерация. Строение скелетной мышцы.
70. Морфологические и функциональные особенности сердечной мышечной ткани.
71. Общая характеристика нервной ткани. Нейроны и их классификация.
72. Строение и функции мягкотных и безмякотных нервных волокон.
73. Строение рефлекторной дуги.
74. Нейроглия. Классификация, строение, и функции.
75. Соединение нейронов между собой.
76. Строение концевых нервных аппаратов.
77. Развитие и регенерация элементов нервной системы.

ВОПРОСЫ К ЭКЗАМЕНУ
(для специальности 6-05-0511-03 Микробиология)

1. Цитология как наука. История развития цитологии. Связь цитологии с другими науками.
2. Основные методы исследования клетки.
3. Типы цитологических препаратов. Методика приготовления временных и постоянных препаратов.
4. Клеточная теория. Историческое развитие и значение клеточной теории.
5. Сходства и различия в строении животных и растительных клеток.
6. Особенности организации клеток одноклеточных организмов.
7. Цитоплазматическая мембрана. Химический состав, строение, свойства и функции наружной цитоплазматической мембраны. Этапы развития исследований мембран: липидная, «бутербродная» и жидкостно-мозаичная модели. Типы подвижности молекул в биомембране.
8. Дополнительные структуры поверхности клеток.
9. Характер соединения мембранных структур.
10. Особенности строения клеточной оболочки растений.
11. Явления фаго- и пиноцитоза и их значение.
12. Механизмы прохождения веществ через клеточные мембраны.
13. Гиалоплазма. Цитоскелет. Микротрубочки. Микрофиламенты.
14. Эндоплазматическая сеть и ее типы. Строение и функции ЭПС.
15. Строение, химический состав и функции рибосом. Синтез белка в гиалоплазме. Этапы трансляции.
16. Химический состав и структура микротрубочек. Ультраструктура клеточного центра, веретена деления, ресничек и жгутиков.
17. Строение и функции пластид. Вакуоли растительных клеток.
18. Химический состав, ультраструктура и функции митохондрий. Геном и белоксинтезирующая система митохондрий, эндосимбиотическая теория их происхождения.
19. Строение, химический состав и функции пластинчатого комплекса и лизосом. Роль лизосом в специализированных клетках. Пероксисомы и глиоксисомы.
20. Специальные органоиды клеток и их классификация.
21. Миофибриллы, их химическая и субмикроскопическая организация.
22. Непостоянные включения в клетке. Трофические включения и их функции.
23. Секреторные включения, их химическая природа и функции. Роль внутриклеточных структур в образовании секретов. Типы секреции. Экскреторные включения.

24. Ядро. Общая морфология и основные структуры. Ядерно-плазменное отношение. Строение ядерной оболочки. Кариоплазма. Строение и функции ядрышка.

25. Хромосомы. Число и морфология хромосом. Ультраструктура хромосом.

26. Хромосомы. Число и морфология хромосом. Ультраструктура. Химический состав. Кариотип. Структурные и количественные изменения кариотипа. Половые хромосомы.

27. Клеточный (митотический цикл). Регуляция клеточного цикла. Типы митоза.

28. Характеристика интерфазы. Интерфазные состояния ядер. Типы и периоды интерфазы.

29. Митоз как универсальный процесс размножения клеток эукариот. Фазы митоза, их различия у растений и животных.

30. Характеристика амитоза.

31. Эндомитоз и его значение.

32. Эндорепродукция и ее значение.

33. Мейотическое деление клеток. Типы мейоза. Стадии профазы I. Конъюгация хромосом и кроссинговер. Биологическое значение мейоза.

34. Сперматогенез. Распределение хромосом при сперматогенезе.

35. Оогенез. Распределение хромосом при оогенезе.

36. Дифференциация клеток. Роль ядра и цитоплазмы в клеточной дифференциации. Стволовые клетки. Дифферон.

37. Раздражимость клеток. Двигательные реакции клетки.

38. Нарушения дифференциации клеток, ведущие к патологическим изменениям. Злокачественный рост.

39. Старение и смерть клетки. Апоптоз как универсальный процесс элиминации клеток эукариот. Внешний и внутренний пути апоптоза.

40. Неклеточные формы жизни.

41. Предмет и методы гистологии. История развития гистологии. Связь гистологии с другими науками.

42. Определение ткани. Тканевые структуры и их компоненты.

43. Общая характеристика эпителиальных тканей (строение, функции, происхождение).

44. Морфологическая классификация эпителиальных тканей. Характеристика однослойного эпителия.

45. Гистогенетическая классификация эпителиальных тканей Н.Г. Хлопина. Роговые образования кожного эпителия. Образование и строение волоса и ногтя человека.

46. Функциональная классификация эпителиальных тканей.

Характеристика кожного, кишечного, целомического и реснитчатого эпителиев

47. Железистый эпителий. Особенности строения glanduloцитов. Классификация и строение желез. Типы секреции. Секреторный цикл.

48. Общая характеристика крови. Плазма крови и ее значение.
49. Строение и функции эритроцитов и тромбоцитов.
50. Лейкоциты, их строение и функции.
51. Классификация лейкоцитов.
52. Характеристика гранулоцитов и агранулоцитов.
53. Эмбриональное кроветворение.
54. Кроветворение во взрослом состоянии. Теории кроветворения.
55. Собственно-соединительная ткань. Общая характеристика и функции.
56. Строение и функции рыхлой волокнистой соединительной ткани.
57. Строение и функции жировой, пигментной и ретикулярной тканей.
58. Кровь и рыхлая соединительная ткань как единая система.
59. Плотная соединительная ткань; её строение и разновидности. Сухожилия и связки.
60. Общая характеристика хрящевой ткани. Строение гиалинового хряща. Надхрящница и ее значение.
61. Волокнистая и эластическая хрящевая ткань. Гистогенез хрящевой ткани и её восстановление при повреждениях.
62. Общая характеристика костной ткани. Грубоволокнистая костная ткань.
63. Строение пластинчатой костной ткани. Типы промежуточного вещества.
64. Надкостница и ее строение.
65. Развитие кости из мезенхимы.
66. Развитие кости на месте хряща. Регенерация кости. Условия правильного костеобразования.
67. Общая характеристика и классификация мышечной ткани.
68. Гладкая мышечная ткань. Ее морфология, развитие и функции.
69. Поперечнополосатая мышечная ткань. Строение и функции, развитие и регенерация. Строение скелетной мышцы.
70. Морфологические и функциональные особенности сердечной мышечной ткани.
71. Общая характеристика нервной ткани. Нейроны и их классификация.
72. Строение и функции мягкотных и безмякотных нервных волокон.
73. Строение рефлекторной дуги.
74. Нейроглия. Классификация, строение, и функции.
75. Соединение нейронов между собой.
76. Строение концевых нервных аппаратов.
77. Развитие и регенерация элементов нервной системы.

ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Зиматкин, С.М. Цитология, гистология, эмбриология : учебник для студентов учреждений высшего образования по специальности «Медико-диагностическое дело» / С. М. Зиматкин [и др.]. – Минск : Вышэйшая школа, 2022. – 446 с.

Дополнительная

1. Глушен, С.В. Цитология и гистология: учебное пособие / С.В. Глушен. – Минск : БГУ, 2017. – 215 с.

2. Зиматкин, С.М. Гистология, цитология и эмбриология. Атлас учебных препаратов: учебное пособие / С.М. Зиматкин. – Минск : Вышэйшая школа, 2021. – 98 с.

3. Кассимерис, Л. Клетки по Льюину / Л. Кассимерис [и др.] ; пер. 2-го англ. изд. – 4-е изд. – М. : Лаборатория знаний, 2023. – 1056 с.

4. Лешко, А.А. Цитология. Гистология : учеб.-метод. комплекс / А.А. Лешко, С.П. Коханская, Г.А. Лешко. – Витебск : – Витебск : УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2009. – 217 с.

5. Мяделец, О.Д. Гистология, цитология и эмбриология человека. Часть 1. Цитология, эмбриология и общая гистология: учебник для студентов учреждений высшего образования по специальности «Лечебное дело» / О.Д. Мяделец. – Витебск: ВГМУ, 2014. – 439 с.

Учебное издание

**ЦИТОЛОГИЯ И ГИСТОЛОГИЯ ДЛЯ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ:
6-05-0511-03 МИКРОБИОЛОГИЯ, 6-05-0521-01 ЭКОЛОГИЯ**

Учебно-методический комплекс по учебной дисциплине

Составитель

ДЕРЖИНСКИЙ Евгений Александрович

Технический редактор

Г.В. Разбоева

Компьютерный дизайн

Е.А. Барышева

Подписано в печать 06.11.2024. Формат 60х84 ¹/₁₆. Бумага офсетная.

Усл. печ. л. 11,57. Уч.-изд. л. 11,69. Тираж 45 экз. Заказ 156.

Издатель и полиграфическое исполнение – учреждение образования
«Витебский государственный университет имени П.М. Машерова».

Свидетельство о государственной регистрации в качестве издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/255 от 31.03.2014.

Отпечатано на ризографе учреждения образования
«Витебский государственный университет имени П.М. Машерова».
210038, г. Витебск, Московский проспект, 33.