

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

КАРАГАНДИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

Б. Т. Есильбаева, Б. Ж. Култанов

ПАТОЛОГИЯ КЛЕТКИ

(учебное пособие)

**Караганда
2017**

УДК 616 (075)

ББК 52. 5я 73

Е 83

Рецензенты:

М. А. Мукашева – зав. лаборатории «Экологический мониторинг» БГФ КарГУ им. Е.А. Букетова, д.б.н., профессор кафедры физиологии;

Л. К. Ибраева – зам. директора по научной работе Национального центра гигиены труда и профессиональных заболеваний МЗ и СР РК, д.м.н., профессор;

Б. К. Койчубеков – зав. кафедрой медицинской биофизики и информатики, КГМУ, д.б.н., профессор.

Е 83 Есильбаева Б. Т., **Патология клетки**: учебное пособие / Б. Ж. Култанов. - Караганда, 2017. - 96 с.

ISBN 978-601-202-210-0

В учебном пособии авторы представили современные данные о причинах и механизмах развития структурно-функциональных нарушений клетки на молекулярно-клеточном уровне. Рассматриваются вопросы патологии биомембран клетки и ее внутренних структур. Показана роль нарушений информационного обеспечения клетки в развитии патологии и значение защитно-адаптационных механизмов.

Пособие рассчитано на студентов высших учебных заведений и может быть использовано для постдипломного обучения, а также по специальности технология фармацевтического производства. Представляет интерес для аспирантов и врачей различных специальностей.

УДК 616 (075)

ББК 52. 5я 73

Обсуждено и одобрено на заседании Учебно-Методического Совета КГМУ. Протокол № 4 от «9» ___ 12 ___ 2015 г.

Утверждено и рекомендовано к изданию Ученым Советом КГМУ. Протокол № 5 от «18» ___ 12 ___ 2015г.

Утверждено и рекомендовано к изданию под грифом УМО при КарГУ им.Е.А.Букетова МОН РК. Протокол № 2 от «29» ___ 05 ___ 2017 г.

ISBN 978-601-202-210-0

© Б. Т. Есильбаева, Б. Ж. Култанов, 2017

Перечень сокращений, условных обозначений, символов

АДФ	-	аденозиндифосфат
АКР	-	активные кислородсодержащие радикалы
АОЗ	-	антиоксидантная защита
АТФ	-	аденозинтрифосфат
АФК	-	активные формы кислорода
АЭС	-	атомная электростанция
ДНК	-	дезоксирибонуклеиновая кислота
ГДФ	-	гуаназиндифосфат
ГК	-	глюкокортикоиды
ГТФ	-	гуаназинтрифосфат
КРФ	-	кислоторастворимые фракции
ЛПК	-	липоперекисный каскад
МДА	-	малоновый диальдегид
ПОЛ	-	перекисное окисление липидов
ПГК	-	программированная гибель клетки
РНК	-	рибонуклеиновая кислота
цАМФ	-	циклический аденозинмонофосфат
ЦНС	-	центральная нервная система
ЭПР	-	эндоплазматический ретикулум
NO	-	оксид азота

Содержание

Введение.....	5
1 Патология мембраны и органелл клетки.....	7
1.1 Влияние антропогенного загрязнения окружающей среды на организм человека.....	7
1.2 Ответные реакции клетки на изменение условий существования.....	8
1.3 Патологии клеточных биомембран	21
1.4 Интенсификация свободнорадикального окисления при патологиях.....	25
1.5 Структурные и функциональные нарушения и патологии органелл клетки.....	31
2 Нарушение информационных процессов в клетке	43
2.1 Основные этапы передачи сигналов в клетку.....	43
2.2 Механизмы передачи сигнала в клетку.....	45
2.3 Механизмы нарушений клеточной сигнализации	52
2.4 Нарушение рецепторной функции сигналов	54
3 Патология репродукции клеток.....	56
3.1 Проблемы клеточной пролиферации	56
3.2 Аномалии митотического цикла	58
3.3 Апоптоз и патологический процесс	63
3.4 Причины и механизмы развития апоптоза	68
Заключение	81
Ситуационные задачи	84
Тестовые задания	86
Ответы к ситуационным задачам	94
Ответы на тестовые задания	94
Список используемой литературы	95

Введение

В учебном пособии «Патология клетки» авторами приводятся основные сведения о клеточных патологиях, о нарушениях мембраны и внутриклеточных структур, даны основные представления о биохимических и функциональных свойствах клеточных органелл, описаны патологические нарушения отдельных структурно - функциональных систем: ядра, мембран, вакуолярной системы и т.д.

Приводится знакомство с биотехнологией, представление о которой необходимо иметь всем выпускникам медицинских вузов, независимо от их специализации, так как биотехнологические методы используются в практике диагностики, профилактики и лечения различных заболеваний, на их основе воспроизводятся процессы с использованием ферментов - биокатализаторов одноклеточных и многоклеточных организмов.

К биологическим объектам, используемым в биомедицинских и фармацевтических технологиях относятся микроорганизмы, клетки и ткани растительного и животного происхождения, их структурные компоненты и метаболиты. Микроорганизмы используются для производства антибиотиков, аминокислот, ферментов, витаминов, рекомбинантных белков, вакцин и пробиотиков, разработки диагностических тест-систем (биочипы, полимеразная цепная реакция, иммуноферментный анализ). Стволовые клетки человека применяются в клеточной терапии и тканевой инженерии, половые клетки используются в технологии экстракорпорального оплодотворения.

В современных условиях можно наблюдать взаимосвязь фармтехнологии, биотехнологии, биоорганической химии, молекулярной биологии и молекулярной генетики. Широкое распространение получило понятие молекулярной биотехнологии как научной дисциплины, где наблюдается взаимосвязь технологии рекомбинантной ДНК (генетическая или геновая инженерия) и традиционных биологических дисциплин, в первую очередь микробиологии, что объясняется причинами более легкого оперирования микробными клетками.

К наиболее значимым эффектам кишечной микробиоты организма человека относятся энергетическая и трофическая функции: для обеспечения организма теплом, обеспечение эпителия энергией, для регулирования перистальтики кишечника, процессов детоксикации, выведение метаболитов, экзогенных и эндогенных субстратов, поддержание гомеостаза клеток и организма, образование молекул для передачи сигналов, в том числе нейротрансмиттеров, организации работы иммунной системы, образование иммуноглобулинов, обеспечение цитопротекции и колонизационной резистентности, повышение резистентности эпителиальных клеток к мутагенам (канцерогенам), замедление роста патогенов и их адгезии к эпителию, «захват» вирусов, поддержание физико-химических параметров гомеостаза.

Роль продуктов метаболизма микроорганизмов в развитии эндотоксикации клеток и патологических процессов в организме продемонстрированы в результатах собственных исследований в рамках научно-исследовательской работы.

В пособии рассматриваются не только структурно-молекулярные, но и информационные механизмы развития типовых патологических процессов. Последовательно анализируются повреждение и вызываемые им ответные реакции отдельных клеток органов и тканей, а также целостного организма.

Пособие содержит 3 главы и заключение, отдельные главы посвящены общей патологии клеток, приводящей к структурным и функциональным нарушениям их жизнедеятельности. Рассматриваются изменения клеточных структур при некрозе, при программированной клеточной гибели - апоптозе, аутофагии, митотические катастрофы, свободно-радикальные механизмы и др.

Показано, что усиление активности ПОЛ сопровождается выделением большого количества токсических продуктов липопероксидации, наблюдаются повреждения клеточных мембран, сопровождающиеся высвобождением кислых протеаз, которые вызывают расщепление мембранных белков с образованием олигопептидов, вызывающих развитие эндотоксикации клетки.

Раскрываются механизмы регуляции редокс-баланса клетки, показано значение антиоксидантной защиты в повышении устойчивости клетки к различным негативным воздействиям факторов окружающей среды и многоуровневый характер действия механизмов антиоксидантной защиты.

Авторы стремились с современных позиций объяснить реакции живых клеточных систем на повреждения, так как знание общих закономерностей развития патологических процессов в клетке необходимо для врачей всех специальностей.

Учитывая вышеизложенное данное учебное пособие рекомендуется для студентов-медиков и как руководство для последипломного образования врачей.

1 Патология мембраны и органелл клетки

1.1 Влияние антропогенного загрязнения окружающей среды на организм человека

Негативные факторы среды оказывают влияние на здоровье человека, и в настоящее время возникла проблема экологической патологии, вследствие воздействия на клетки и организм физических, химических и биологических факторов, большая часть из которых антропогенного происхождения.

Последствия неблагоприятного воздействия факторов окружающей среды на организм человека могут проявляться в виде острых интоксикаций с определенной клинической симптоматикой.

Длительное воздействие загрязнения приводит к раннему возникновению процессов старения и сокращению продолжительности жизни, что связано с нарушениями на клеточном уровне.

Экологическую патологию определяют появление новых необычных заболеваний, атипичность течения известных болезней, а также «омоложение» некоторых заболеваний (сахарного диабета, гипертонической болезни, инфаркта миокарда и даже мозговых инсультов у детей).

В настоящее время выделяются «новые» экологические болезни, такие как диоксиновый синдром (хлоракне, пигментация кожи, иммунодефицит); болезнь Минамата (параличи, умственная отсталость вследствие поражения центральной нервной системы метилртутью, накопленной в морских продуктах питания); общая иммунная депрессия – «химический СПИД», вызываемый диоксинами, тяжелыми металлами, токсичными радикалами и др.

Большое количество новых химических факторов в окружающей среде, обладают опасными для клетки и ее генетического аппарата свойствами.

В настоящее время мутагенные среды в виде химических соединений, ионизирующих излучений и др. проникают в клетки и поражают их генетическую программу, вызывая мутации.

Мутагенное действие может проявляться в увеличении частоты хромосомных aberrаций в соматических и половых клетках, что приводит к новообразованиям, спонтанным абортam, аномалиям развития плода и бесплодию.

В загрязненных районах чаще встречаются неблагоприятно протекающие беременности и роды. В тех случаях, когда поражение затрагивает ДНК, находящуюся в зародышевых клетках, эмбрионы гибнут или дети рождаются с наследственными дефектами.

Среди заболеваний органов дыхания выделяют острые (простуду, бронхит, воспаление легких) и хронические болезни (хронический бронхит, астму), рак легких. В последнее время, проблема загрязнения атмосферного воздуха металлами привлекает медиков, биологов, химиков и экологов в связи с тем, что эти вещества токсичны и имеют повсеместное распространение (бензпирен, свинец, ртуть, медь, алюминий, кадмий и другие тяжелые

металлы). Литературные данные свидетельствуют о влиянии токсических и фоновых уровней свинца на организм женщин и детей, которое выражается в нарушении репродуктивной функции женщин, развитии патологического течения беременности, наступлении досрочных родов, нарушениях состояния плода и новорожденного.

Обязательным условием для обеспечения нормальной жизнедеятельности является защита человека от негативных воздействий антропогенного и техногенного происхождения. Одним из таких направлений занимается фармацевтическая технология, которая обеспечивает внедрение современных и новейших достижений науки, чтобы достичь высокой эффективности в технологии и производстве лекарственных средств для их применения в профилактических, лечебных, реабилитационных, диагностических целях.

1.2 Ответные реакции клетки на изменение условий существования

Клетка в современном представлении является целостной биологической системой, со всеми проявлениями жизни сложного организма. При функционировании клетки происходит реализация определенных генетических программ, активность которых зависит от влияния факторов внешней среды и внутренних процессов клетки.

Все клетки состоят из одних и тех же структурных компонентов и в них протекают одинаковые основные метаболические процессы, но каждый тип клеток экспрессирует и использует ограниченный, специфичный для данного типа клеток набор белков. Каждая клетка отличается набором белков, уникальной внутренней молекулярной организацией и способами регуляции их активности. Все типы клеток возникают из стволовых клеток, за счёт запуска дифференционно-специфичных программ экспрессии генов.

Стволовые клетки митотически активны и дают начало многим отдельным линиям клеток, поэтому они называются плюрипотентными.

Любая клетка поддерживает свой оптимальный метаболический уровень, соответствующий условиям среды, такое стабильно-динамическое состояние называется *гомеостаз*, параметры которого не должны выходить за пределы максимально допустимых значений, а метаболическая активность и функциональные возможности клетки могут значительно повышаться, что приводит к *адаптации* клетки к условиям среды.

При включении защитных механизмов адаптации и развитии приспособительно-компенсаторных реакций, клетка способна определенное время выполнять свои функции в полном объеме, но в уже изменившихся условиях. Слева в овале - границы нормы (Рисунок 1).

Существенное свойство типовых патологических процессов - их обратимость. Если степень повреждения выходит за пределы адаптивных возможностей, процесс становится необратимым (примеры - некроз, апоптоз, дисплазия, опухолевый рост). Жизнь клетки в условиях гомеостаза -

постоянное взаимодействие с различными сигналами и факторами. Повреждения клеток при действии различных факторов могут быть обратимым или необратимым (Рисунок 2).



Рисунок 1- Гомеостаз, адаптация и типовые формы патологии клеток (Красников Е.В., 2008 г)

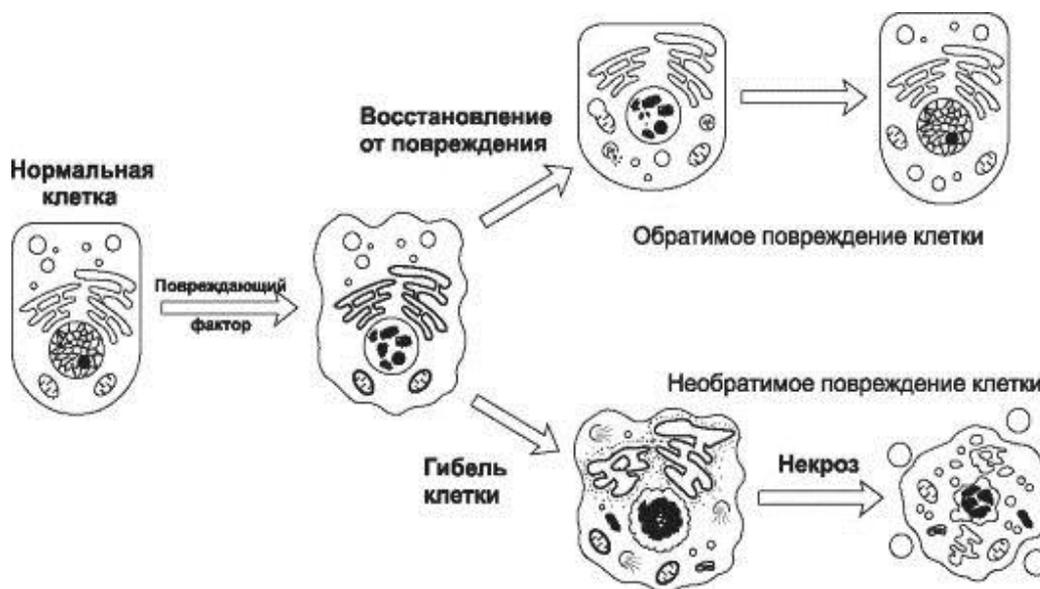


Рисунок 2 - Признаки обратимого и необратимого повреждения (Красников Е.В., 2008 г)

Существуют различные классификации факторов:

- в зависимости от природы: физические, химические и биологические.
- в зависимости от происхождения повреждающие факторы подразделяют на экзогенные и эндогенные.

К экзогенным факторам относят:

- *физические воздействия* (механические, термические, лучевые, электрический ток);
- *химические агенты органической и неорганической природы* (кислоты, щёлочи, этанол, сильные окислители и др.);
- *биологические факторы* (вирусы, риккетсии, бактерии, эндо- и экзотоксины микроорганизмов, продукты метаболизма простейших и гельминтов).

К эндогенным факторам относят:

- *избыток свободных радикалов*, колебания осмотического давления, накопление или дефицит ионов H^+ , K^+ , Ca^{2+} , кислорода, углекислого газа, перекисных соединений, метаболитов и др.);

При действии на клетку негативных факторов происходит изменение ее стабильно-динамического состояния или гомеостаза, что проявляется различными структурными и функциональными нарушениями (Рисунок 3).

ОТВЕТ КЛЕТКИ НА ПОВРЕЖДЕНИЕ	
Природа повреждающего фактора	Ответ клетки
Аномальные физиологические стимулы	Адаптация
<ul style="list-style-type: none">• Усиленная стимуляция• Снижение трофики, стимуляции• Хроническое раздражение (физическое или химическое)	<ul style="list-style-type: none">• Гиперплазия, гипертрофия• Атрофия• Метаплазия
Дефицит кислорода, действие механических, химических, биологических факторов	Повреждение клетки
<ul style="list-style-type: none">• Острое и преходящее• Прогрессирующее, тяжелое (включая повреждение ДНК)	<ul style="list-style-type: none">• Острое обратимое повреждение Отек, отложение жировых включений• Необратимое повреждение Гибель клетки

Рисунок 3 - Ответ клетки на повреждение
(Сулаева О.Н. 2014г.)

В связи с этим можно наблюдать следующие ситуации:

1. Механизмы адаптации клетки способны нейтрализовать негативные воздействие патогенного факторов, при этом параметры гомеостаза не выходят за предельно допустимые значения и повреждение клетки не происходит.
2. Механизмы адаптации не позволяют устранить действие патогенного фактора, что приводит к формированию различных патологических процессов клетки.

Процесс, который предшествует гибели клетки, и представляющий собой начальные, обратимые стадии повреждений, называется *паранекроз* (от греч. *para* – пара, при + *nekros* – мертвый).

3. При истощении защитно-приспособительных механизмов клетки, возникают вторичные нарушения («эндогенезация патологического процесса», – *некробиоз* (от греч. *nekros* – мертвый, *bios* – жизнь). Это глубокая стадия повреждений клетки, которая предшествует ее смерти.

Необходимо отметить, что нарушения в клетках зависят от жизненного цикла клетки, на период которого приходится воздействие повреждающих факторов, поэтому выделяют *митотические* и *интерфазные* повреждения, которые имеют различные последствия для клетки.

В зависимости от характера нарушений, вызванных определенным патогенным фактором различают две категории повреждений:

1. Специфические повреждения – это нарушения структурно-молекулярных компонентов клетки или механизмов информационного обеспечения, вызванные негативными факторами. Для механического фактора специфическим повреждением является нарушение целостности структурных компонентов клеток, а для всех видов ионизирующего излучения, ультрафиолетового излучения характерно разрушение молекул с образованием свободных радикалов, приводящих к нарушению внутриклеточных структур и биохимических процессов.

Действие химических факторов проявляется высокой специфичностью, например, цианиды подавляют активность цитохромоксидазы, что приводит к развитию тканевой гипоксии. Атропин блокирует холинорецепторы различных клеток, а снижение пируватоксидазной активности лежит в основе специфического повреждения клеток при отравлении веществами, содержащими мышьяк.

При действии *биологических* факторов, например, токсинов патогенной флоры, происходит угнетение метаболических процессов, например:

- *столбнячный токсин* блокирует выделение тормозного медиатора из окончаний нейронов в синаптическую щель, что приводит к снижению чувствительности нервных волокон.

- *дифтерийный токсин* инактивирует фермент транслоказу, после чего ингибируется синтез белка в клетках.

- *холерный экзотоксин* способен активировать образование циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в эпителии тонкого кишечника, после чего энтероциты начинают выделять в просвет кишечника электролиты и воду и формируется диарея.

- вирусы, простейшие паразитируют в клетках, снижая их функциональные возможности и продолжительность жизни.

Наиболее известным вирусным заболеванием человека является простуда, которая может иметь и бактериальную этиологию), грипп, ветряная оспа и простой герпес.

Такие серьезные и опасные болезни, например, геморрагическая лихорадка Эбола, СПИД, птичий грипп вызываются вирусами. Способность вируса к развитию заболевания определяется вирулентностью.

Для вирусов характерны различные механизмы, вызывающие заболевания у хозяина, которые сильно зависят от их видовой принадлежности. Такой механизм на клеточном уровне вызывает, прежде всего, лизис клеток, приводящий к их гибели (Рисунки 4, 5).



Рисунок 4 - Реакция клетки на повреждение (Сулаева О.Н. 2014г.)

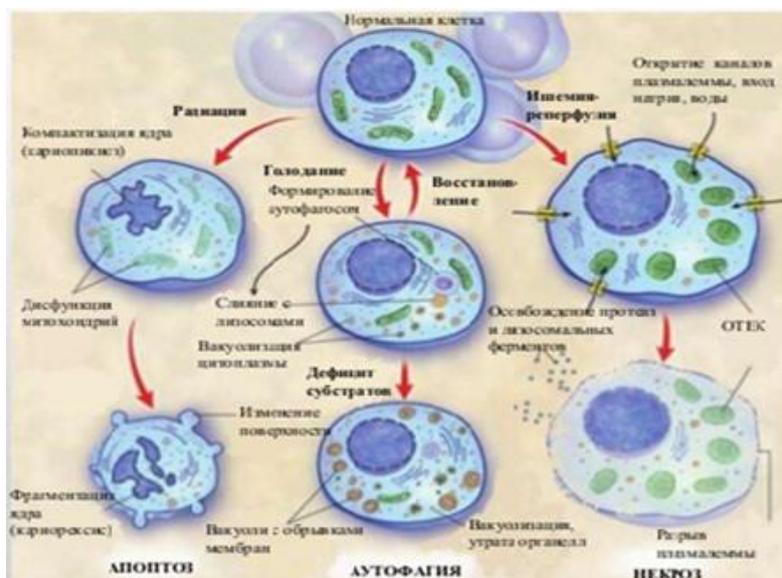


Рисунок 5 - Виды гибели клеток (Сулаева О.Н. 2014г.)

У многоклеточных организмов, при гибели большого числа клеток, начинает страдать организм в целом. Вирусы приводят к нарушению нормального гомеостаза, к развитию заболевания, но они также могут существовать внутри организма и относительно безвредно, например, способность вируса простого герпеса находиться в состоянии покоя внутри

клеток тела человека. Такое состояние называется латентностью, которое характерно для вирусов герпеса, ветрянки и опоясывающего лишая. Многие вирусы способны вызывать хронические инфекции, при которых вирус продолжает размножаться в клетках тела организма, несмотря на наличие защитных механизмов, например, при инфекциях, вызванных вирусами гепатита В и С. Хронических больных людей называют носителями, так как они служат резервуаром для вирусов.

2. Неспецифические повреждения – это изменения в клетках, возникающие при взаимодействии с множеством этиологических факторов, которые нарушают проницаемость клеточных мембран и приводят к:

- активации свободно-радикальных и перекисных реакций;
- внутриклеточному ацидозу;
- денатурации молекул белков;
- дисбалансу ионов и воды;
- изменению интенсивности окислительного фосфорилирования.

Изучение специфических и неспецифических повреждений позволит получить необходимую информацию о характере и интенсивности действия фактора, о распространенности патологического процесса, что позволит обеспечить проведение патогенетической профилактики и терапии.

Нами была установлена роль гомеостаза в развитии патологии клетки, который изменяется при воздействии патогенного агента на клетку, но нарушения в клетках проявляются и при нарушении информационных механизмов, включающих адаптационную программу.

Патологические процессы в клетке начинаются с нарушений, которые возникают при непосредственном воздействии на нее патогенного фактора. Взаимодействие повреждающего фактора с различными структурными компонентами клетки, ведет к нарушению гомеостаза, то есть его метаболической составляющей и, следовательно, к развитию патологии.

В современных условиях актуальным является изучение влияния негативных факторов среды и развитие патологии на молекулярно-клеточном уровне в экологически неблагоприятных регионах, что и определило цель нашего исследования воздействия на организм человека тяжелых металлов, прежде всего свинца, пестицидов, пыле-солевых аэрозолей в зонах экологического неблагополучия Приаралья. Свинец попадает в окружающую среду с отработавшими газами автотранспорта, использующего в качестве топлива этилированный бензин, с выбросами предприятий перерабатывающей промышленности, с дренажными водами и с пыле-солевыми выбросами высохшего дна Аральского моря.

Ухудшение окружающей среды отразилось на состоянии здоровья населения. Многочисленными исследованиями, проведенными учеными Казахстана показано, что состояние здоровья населения Приаралья в последние десятилетия продолжает ухудшаться.

Специфические, неспецифические и конституциональные факторы оказывают влияние на формирование экологически зависимой патологии

репродуктивной системы. Эти изменения проявляются в виде клинических, иммунологических и биохимических нарушений, которые имеют сходные результаты при воздействии различных факторов внешней среды.

На наш взгляд, установленные по результатам исследования патологические изменения у женщин репродуктивного возраста сопровождаются нарушениями окислительного метаболизма и развитием окислительного стресса, а также увеличением содержания внеклеточных ДНК и РНК, гистоноподобных белков в клетках.

Выявленный воспалительный процесс, бактериальный вагиноз и диспластические изменения (онкоцитология) в эпителиальных клетках влагалища, выражающиеся в изменениях соотношения ядра и цитоплазмы, ядерных очертаний, изменения в распределении хроматина, на наш взгляд, приводят к деструкции генетического аппарата клеток (Рисунки 6, 7).

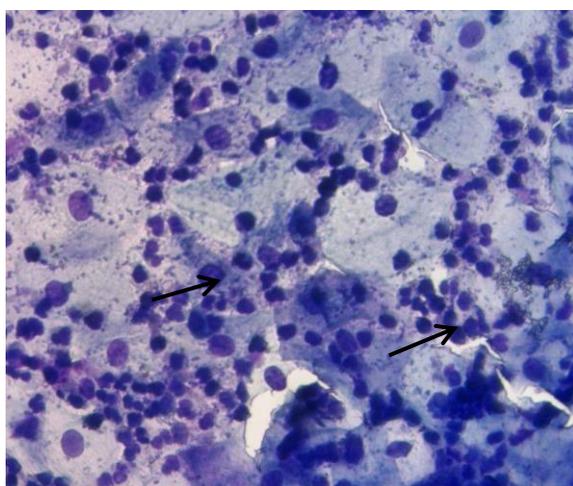


Рисунок 6 - Клеточные элементы воспаления в мазке женщины проживающей в регионах Приаралья. Ув.100х. Окраска по Романовскому-Гимзе.

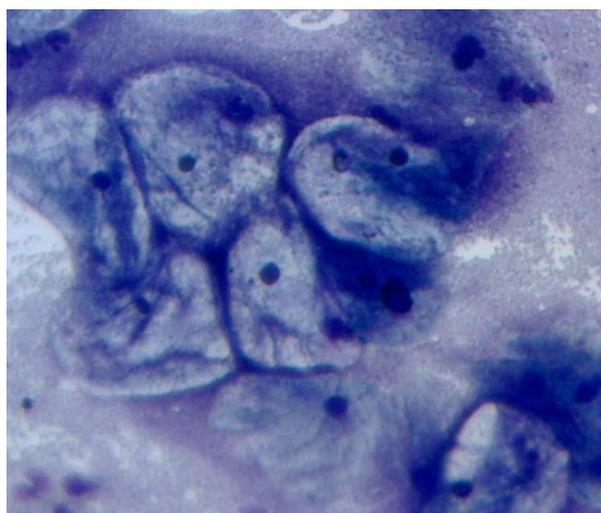


Рисунок 7 - Бактериальный вагиноз в мазке женщины проживающей в регионах Приаралья. Ув.100х. Окраска по Романовскому-Гимзе.

При оценке опасности действия факторов окружающей среды на репродуктивное здоровье применяют понятие репродуктивной токсичности, под которой понимают развитие неблагоприятных эффектов, сопровождающих процессы оплодотворения.

Проблема мужского и женского бесплодия в последнее время приобретает особую медицинскую и социальную значимость в связи с увеличением заболеваемости половых органов, ростом аномалий развития, обусловленных загрязнением окружающей среды, широким и бесконтрольным применением лекарственных средств. Существенное значение может иметь рост социально-психологической напряженности среди широких масс населения, находящихся как в зонах экологических катастроф, так и далеко за их пределами.

Для сохранения репродуктивной функции необходимо научиться определять степень репродуктивной опасности предприятия или экологически неблагополучной территории в целом, улучшить эффективность оздоровительных программ и медицинской поддержки отдельных групп населения с повышенным уровнем риска, совершенствовать законодательство по охране труда и охране окружающей среды.

Для оценки состояния окислительного метаболизма в половых клетках нами использовались молекулярно-клеточные и биохимические методы исследования, проводилось определение первичных, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов и ферментов антиоксидантной защиты.

По данным результатов исследования, изучены эффекты окислительного стресса на морфологические параметры спермы, отмечено увеличение концентрации свободных радикалов, катаболитов перекисное окисление липидов (ПОЛ) и угнетение антиоксидантной активности клеток, приводящей к торможению экспрессии белков в семени плазмы и сперматозоидов, установлено содержания белков в семенной плазме для оценки состояния окислительного стресса.

Патология сперматогенеза. Достаточно часто причиной репродуктивной несостоятельности мужчины являются нарушения сперматогенеза различных видов. В том числе сочетанные нарушения, такие, как олигоастенозооспермия и олигоастенотератозооспермия. Олигоастенозооспермия представляет собой сочетанную патологию, характеризующаяся снижением в спермограмме показателей концентрации, морфологии и подвижности ниже границ, определенных всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ). Все случаи с нарушениями морфологии и концентрации, как и выраженные тератозооспермии и олигозооспермии относятся к выраженной патоспермии.

Олигоастенотератозооспермия относится к сочетанной патологии, включающей в себя олигозооспермию (уменьшение концентрации сперматозоидов), таратохоспермию (морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте менее 50%) и астенозооспермию (снижение концентрации активных сперматозоидов, движущих по прямолинейным траекториям и снижение скорости перемещения сперматозоидов в эякуляте).

По данным Култанова Б.Ж., изучено влияние неблагоприятных факторов Центрального Казахстана на процессы сперматогенеза.

По данным натурного и экспериментального исследования обнаружена взаимосвязь между нарушением биохимического статуса, физиологическими характеристиками и интегральными критериями патологии сперматогенеза у лиц, проживающих на территории космодрома «Байконур» и регионах падения ступенчатого ракетносителя «Протон» Карагандинской области.

Анализ клинико-лабораторного исследования показал, что у мужчин, проживающих в экологически неблагоприятных условиях регионов Приаралья (Кызылординской области) наблюдаются стойкие нарушения сперматогенеза. Это документируется данными исследования интегральных, морфофизиологических характеристик эякулята, особо следует отметить, что наиболее выраженные нарушения со стороны морфофизиологических характеристик сперматозоидов выявлены у лиц молодого возраста.

Картина данных нарушений проявлялась в виде повышения числа неподвижных сперматозоидов, появления атипичных форм с деформацией головки и удвоением аксонемы.

Увеличение числа неподвижных и атипичных сперматозоидов при воздействии пыле-солевых аэрозолей и экотоксикантов (гидразин, тяжелых металлов и повышенного радиационного фона может индуцировать нарушения на клеточном и субклеточном уровнях, приводящих к нарушению межклеточной сигнализации и мембранного транспорта, которые в свою очередь являются пусковым механизмом развития патофизиологических процессов в организме, о чем свидетельствуют полученные нами результаты исследования эндокринного и иммунного статусов у лиц проживающих в экологически неблагоприятных районах (Рисунки 8, 9, 10).

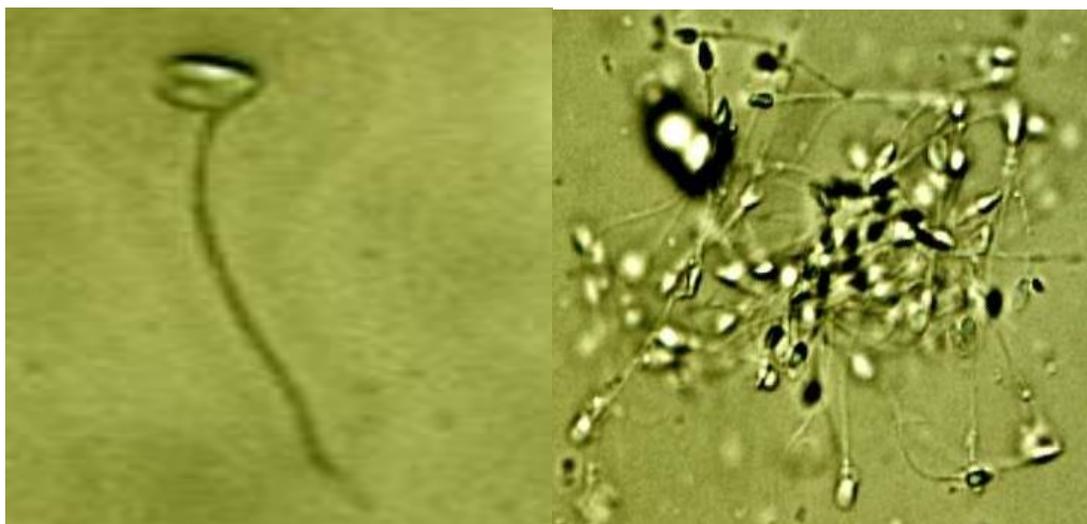


Рисунок 8 - Сперматозоид с головкой грушевидной формы. Агглютинация сперматозоидов. Ув.100х.



Рисунок 9 – Деформация головки сперматозоидов
(сращение и булавковидная головка сперматозоидов. Ув.100х.



Рисунок 10 – Деформация аксонемы сперматозоидов
(изогнутая и удвоенная аксонема). Ув.100х.

Для дополнительной оценки функционального состояния организма целесообразно применять различные методы исследования. Ротовая жидкость отражает состояние динамического постоянства внутренней среды организма или гомеостаза. Известно, что ротовая жидкость может значительно меняться по составу, физико-химическим и биологическим свойствам при действии различных факторов, то есть является индикатором реактивности организма.

Авторы метода выделили особенности организации и структуризации биологических жидкостей у практически здоровых людей, которые характеризовались наличием центральной, периферической и переходной зон.

При дегидратации сыворотки крови образуется сфероидная фация, основными структурными элементами которой являются трещины (радиальные и поперечные), сектора, отдельности и конкреции.

При патологических состояниях наблюдается нарушение симметричности рисунка фации, а также образование дополнительных структур – бляшек, морщин, листовидных образований, различных анизотропных морфотипов и т.д.

В настоящее время исследователями изучается свободный и инициированный кристаллогенез таких биологических жидкостей, как сыворотка крови, слюна, моча, слезная жидкость, желчь, желудочный сок, спинномозговая жидкость.

Важным аргументом для использования жидкости в диагностике функционального состояния организма является простота выполнения и неинвазивность проводимой процедуры получения данной биологической жидкости.

Актуальность расширения диагностических методов в медицине за счет внедрения неинвазивных методов исследования (прежде всего исключающих забор крови) относится к приоритетным направлениям современных наук о человеке.

Установлено, что функциональный статус организма является существенным фактором, модулирующим результат свободного и инициированного кристаллогенеза ротовой жидкости человека.

По результатам собственного исследования были выявлены особенности кристаллогенеза ротовой жидкости, изучены показатели окислительно-восстановительного гомеостаза у лиц с аскаридозом до и после лечения, дана оценка репродуктивной функции женщин с аскаридозной инвазией.

У лиц с аскаридозом имеются выраженные изменения кристаллизации ротовой жидкости по сравнению с практически здоровыми лицами. Характерными особенностями кристаллограмм слюны у лиц с аскаридозом являются: отсутствие выраженной переходной зоны у большинства образцов; копьевидная форма кончиков боковых осей кристаллов; наличие нетипичных дендритов в центральной зоне кристаллограммы (папоротникообразных, крестообразных, коралловидных кристаллов); в целом менее разветвленные и более тонкие кристаллы центральной зоны, чем в группе сравнения.

Выявленные особенности кристаллограмм ротовой жидкости у лиц с аскаридозной инвазией могут быть использованы для мониторинга эффективности проводимого противоглистного лечения (Рисунки 11, 12, 13, 14, 15).

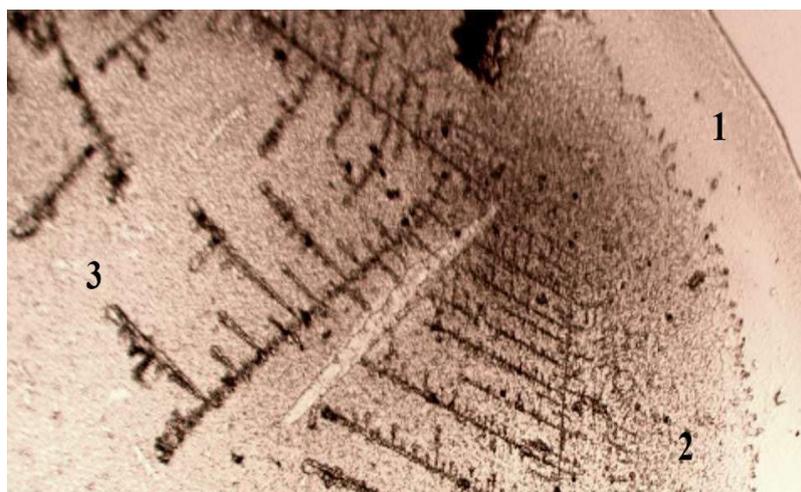


Рисунок 11 – Кристаллограмма слюны практически здоровых лиц:
1 – краевая зона кристаллограммы; 2 – переходная зона;
3 – центральная зона кристаллограммы.

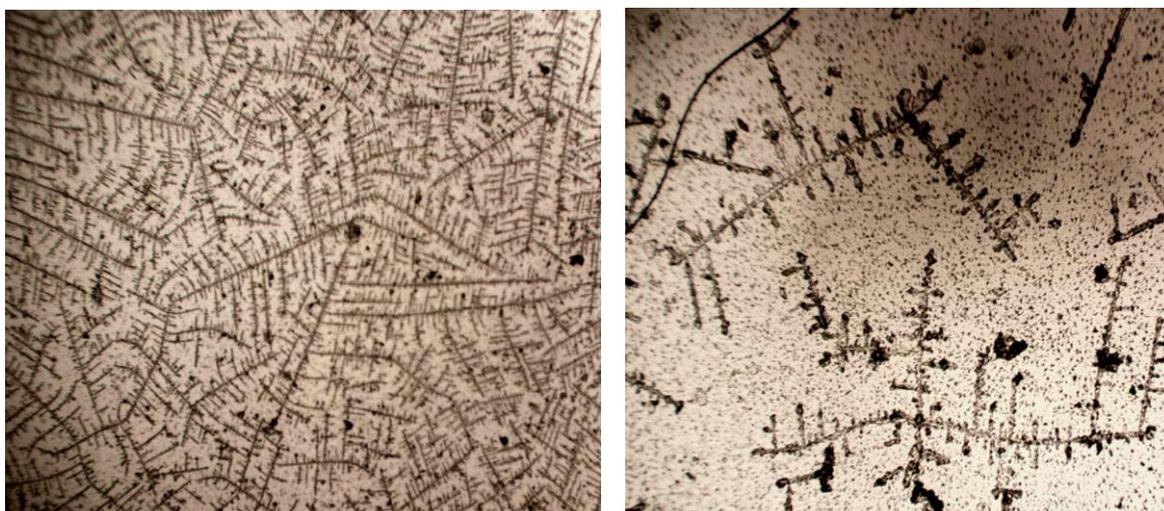
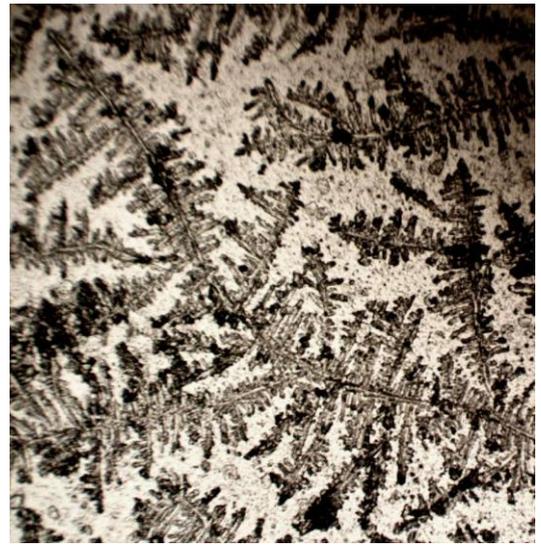


Рисунок 12 – Плотное и разреженное расположение дендритов
в центральной части капли слюны у практически здоровых лиц



а



б

Рисунок 13 – Нетипичные формы кристаллов в центральной зоне кристаллограмм у больных аскаридозной инвазией:
а – крупные крестовидные кристаллы (4×10); б – кристаллы с утолщенными боковыми осями – папоротникообразные кристаллы (4×10)

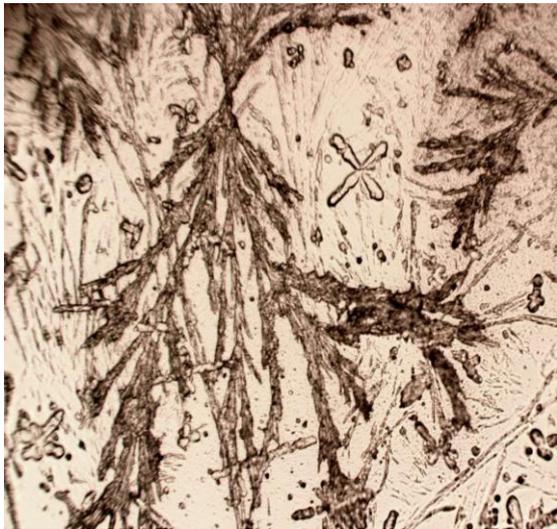


Рисунок 14 – Коралловидные кристаллы в центральной зоне. Кристаллограмм у больных аскаридозной инвазией

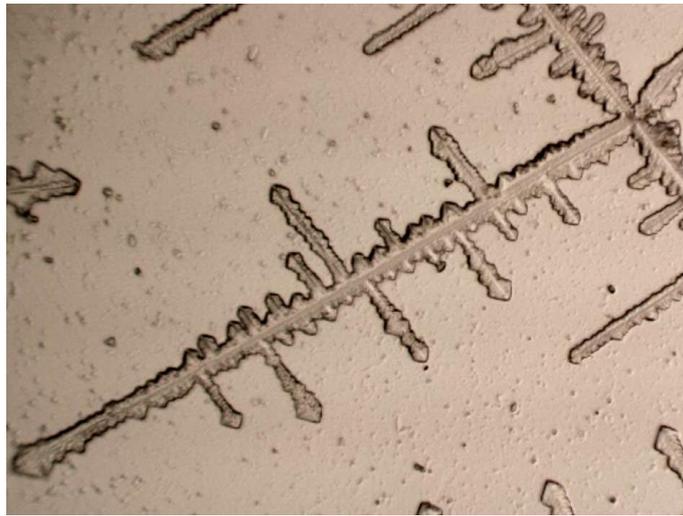


Рисунок 15 – Копьевидная форма окончаний боковых ветвей кристаллов слюны у больных с аскаридозной инвазией

1.3 Патологии клеточных биомембран

Действие выше перечисленных негативных факторов могут вызывать повреждения биомембран клетки и внутриклеточных органелл: ядра, митохондрий, лизосом и др.

Известно, что плазматическая мембрана является барьером, определяющим границы клетки и осуществляющей следующие функции:

- контролирует состав внутриклеточной среды;
- обеспечивает межклеточную и внутриклеточную информацию;
- участвует в образовании межклеточных контактов.

Современная жидкостно-мозаичная модель мембраны представляет двойной слой липидов, причем, каждая молекула мембранного липида имеет гидрофильную головку и два гидрофобных хвоста.

Бислои образуются в водной среде, в котором гидрофобные части обращены друг к другу, а гидрофильные – наружу. Мембранные липиды классифицируются на: фосфолипиды, сфинголипиды, гликолипиды, а также холестерин (Рисунок 16).

Мембранные белки делятся в зависимости от расположения в мембране на:

- глубоко встроены в липидный слой - *интегральные белки* (например, мембранные рецепторы, белки адгезии);
- пронизывают всю толщу мембраны и выступают на наружной и внутренней ее поверхности - *трансмембранные белки*, (например, рецепторы, ионные каналы, переносчики);
- связаны лишь с одной из поверхностей мембраны - *периферические белки*, (например, белки цитоскелета, ферменты рецепторы).

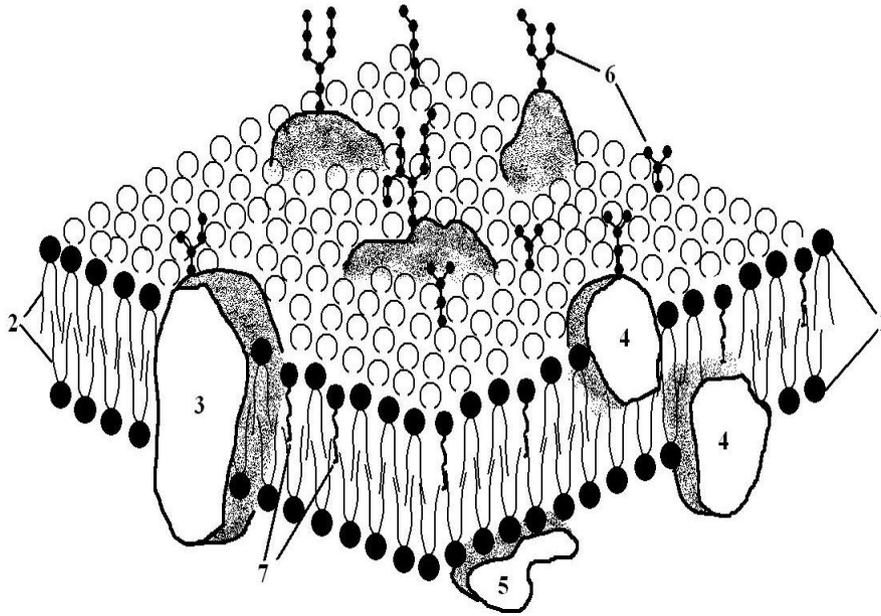


Рисунок 16 - Жидкостно- мозаичная модель мембраны клетки
(Красников Е.В., 2008 г)

В клеточной мембране функции белков зависят от липидного компонента. Свойства бислоя липидов: латеральная диффузия, вращение, изгибание, «флип-флоп». Они определяют текучесть плазмолеммы, они в свою очередь способствуют перемещению молекул белков (белков-ферментов) и жиров.

В связи с тем, что фосфолипиды сочетают в своём составе гидрофильные головки и гидрофобные хвосты, их взаимодействие с водой определяется как *амфифильное*.

При высоких концентрациях фосфолипиды образуют *мицеллы*. Гидрофильные головки формируют поверхность этих сфер, а гидрофобные хвосты направлены к их центру. При таком расположении хвосты защищены от контакта с водой и вместо этого способны на энергоёмкие взаимоотношения между собой. При ещё более высоких концентрациях фосфолипиды спонтанно образуют *бислои*.

Холестерин в наибольшей степени влияет на свойства мембран, он имеет жёсткую стерольную структуру, связывающую и иммобилизующую цепи жирных кислот.

В небольших количествах холестерин снижает текучесть мембран, а при высоких концентрациях значительно снижает способность фосфолипидов к взаимодействию между собой, увеличивает текучесть и понижает температуру фазового перехода.

Понятно, что эти обстоятельства весьма существенны, так как плазматические мембраны животных клеток могут содержать значительное количество холестерина, «флип-флоп» перескоки происходят очень редко (Рисунок 17).

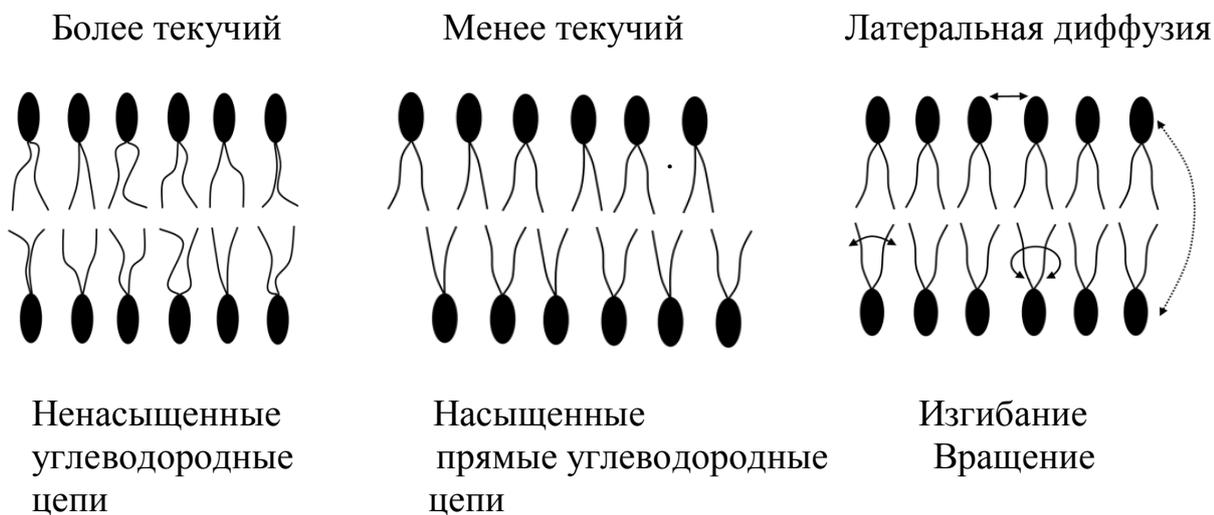


Рисунок 17 - Свойства липидов мембраны (подвижность, текучесть)
(Красников Е.В., 2008 г.)

Как известно на клеточных мембранах встречается углеводы. Углеводы входят в состав гликолипидов и гликопротеидов. Углеводы на поверхности мембраны образуют *гликокаликс*, которые состоящих из олигосахаридных цепей, они выполняют различные функции: адгезии, фагоцитоз, защищает белков от различных повреждений.

С нарушением функции клетки развивается различные патологические процессы, которые разделяется на *врожденные* и *приобретенные*.

С нарушением липидного состава клетки, именно из класса сфинголипидов – цереброзидов, так как они в большом содержании встречаются в нервных системах и покровных (эпителиальных) клетках. Например к патологическим процессам клетки можно отнести такие заболевания как *Ниманна-Пика*), данный патологический процесс развивается при нехватке фермента сфингомиелиназы, обеспечивающего обмен липидов.

К приобретенным нарушениям биологической мембраны относятся:

- активация свободнорадикального окисления;
- активации мембранносвязанных фосфолипаз;
- механо-осмотическое растяжение и разрывы мембран;
- адсорбции на мембране различных полиэлектролитов.

Характерными ультраструктурными нарушениями проницаемости плазматической мембраны являются: усиленное везикулообразование, увеличение поверхности плазмолеммы за счет мембран микропиноцитозных везикул, образование цитоплазматических отростков и инвагинаций плазмолеммы, микроклизмотоз и клизмотоз, утолщение плазмолеммы, образование «крупных» микропор, «брешей» в плазмолемме, «штопка» локально разрушенной плазмолеммы. *Усиленное везикулообразование* приводит к повышению проницаемости цитолеммы и к дефициту ее поверхности («минус-мембрана»).

При увеличении поверхности плазмолеммы за счет мембран микропиноцитозных пузырьков происходит резкое набухание клетки, увеличивается общая площадь плазмолеммы («плюс-мембрана»). В результате нарастающего отека клетки возникает ее гибель.

Образование цитоплазматических отростков и инвагинаций плазмолеммы встречается при воздействии на клетку различных патогенных факторов и свидетельствует об активности цитоплазматической мембраны.

Микроплазмацитоз и плазмацитоз - отделение части цитоплазмы наружу, которая распадается и реутилизируется в межклеточной среде, механизм его сводится к образованию цитоплазматических выростов, ограниченных мембраной, что ведет к отделению части цитоплазмы от клетки.

Утолщение плазмолеммы возникает по ряду причин и может влиять на мембранную проницаемость. Одной из причин является уменьшение ионов кальция во внеклеточной жидкости, которое вызывает изменения проницаемости мембраны для ионов натрия и калия, в клетке накапливается жидкость. Другой причиной может быть удаление фосфолипидов из мембраны воздействием фосфолипаз.

При регулировании мембранной проницаемости происходит поддержание структуры бислоя липидов мембраны с процессами обмена и ресинтеза и соответствующих белковых каналов. Большую роль в регулировании и контроле проницаемости принадлежит гликокаликсу и взаимодействию мембранных белков с цитоскелетом.

К тяжелым изменениям мембранной проницаемости можно отнести повреждения тяжелыми металлами (ртуть), которые взаимодействуют с сульфгидрильными группами мембранных белков, изменяя их конформацию, увеличивая проницаемость мембран для натрия, калия, хлора, кальция и магния, это приводит к быстрому набуханию клеток, разрушению их цитоскелета, после чего в мембранах образуются бреши, приводящие к резкому увеличению проницаемости.

Для всех клеток характерно свойство коммуникабельности и узнавания «своих» и «чужих» клеток, которое необходимо для клеточного кооперирования. Клеточное «общение» и «узнавание» основано на различиях плазматической мембраны и мембран внутриклеточных органелл. Большое значение в процессе узнавания представляет гликокаликс мембраны с поверхностными антигенами - маркерами различных типов клеток.

Изменения клеточной коммуникации, встречающиеся при патологических процессах (воспалениях, опухолевом росте), приводят к изменениям поверхностных антигенов.

Для коммуникабельности клеток важными являются клеточные соединения, которые могут повреждаться при различных патологических процессах. В опухолевых клетках обнаружены аномальные клеточные соединения, так как существует корреляция между нарушениями клеточных стыков и нарушением межклеточных связей.

Нарушения структуры и функции мембран приводят к **каналопатиям** - наследуемым болезням, вызванных мутациями генов, кодирующих синтез субъединиц ионных каналов, зарегистрированных при нервно-мышечных расстройствах.

Ионные каналы могут быть вовлечены в ненаследуемую патологию. Например, причиной диареи являются токсическое действие ряда веществ, в первую очередь самих токсинов, на функцию каналов, функционирующих в плазматической мембране эпителиальных клеток слизистой оболочки пищеварительного тракта. Ионные каналы выступают в роли мишеней для многих лекарственных средств.

Выше была отмечена положительную роль мембранного холестерина, который стабилизирует физико-химические свойства липидного бислоя, увеличивая резистентность плазматических мембран к электропробою и дезинтеграции, но его избыток может вызвать атерогенез.

Насыщенная холестерином мембрана эритроцитов отличается большой устойчивостью к механическим повреждениям, но при этом снижается ее эластичность и эритроциты с трудом проходят через капилляры, что приводит к развитию ишемических нарушений микроциркуляции.

Данные изменения, их клиническое проявление зависит от действия негативных факторов, состояния защитно-приспособительных механизмов и локализации повреждений. При очень многих заболеваниях повреждения мембран клеток являются одним из ведущих звеньев их патогенеза.

1.4 Интенсификация свободнорадикального окисления при патологиях

Процесс интенсификации свободно-радикального окисления мембран и развитие окислительного стресса (ОС) в современных условиях признан универсальным общебиологическим механизмом развития различных видов патологии, а биохимические изменения в клетках и тканях, которые вызваны интенсивной генерацией АФК, имеют общие закономерности.

Общим для развития патологии является усиление свободно-радикальных процессов и снижение активности АОЗ, нарушение ее мобилизации в ответ на повышение активности прооксидантной системы.

В сложившихся условиях возникает необходимость в своевременной антиоксидантной защите, которая способствует снижению уровня реакционноспособных соединений и препятствует их токсическому действию в клетках и тканях.

В процессе нормального функционирования организма в клетках постоянно образуются активные свободные радикалы. К наиболее известным соединениям этого вида относятся активные кислородсодержащие радикалы (АКР) - физиологические метаболиты (сильные окислители), образование которых, необходимо для жизненно важных процессов - транспорта электронов в цепи дыхательных ферментов, синтеза простогландинов и

лейкотриенов, метаболизма катехоламинов, пролиферации и дифференцировки клеток, фагоцитоза и др.

Иницируемое ими свободно-радикальное перекисное окисление липидов регулирует состав бислоя липидов плазмолеммы, изменение активности мембраносвязанных белков-ферментов, проницаемость мембраны к различным ионам, молекулам и веществам.

Метаболические процессы и вещества иницирующие появление свободных радикалов, обеспечивают работу **прооксидантной** (от греч. – oxudation окисление) системы клетки.

АКР и продукты ПОЛ, образовавшиеся в большом количестве, оказывают токсическое действие на клетку, вызывая «**окислительный стресс**» или «**оксидативный стресс**», что может завершиться гибелью клетки или развитием патологии.

Основными повреждениями плазмолеммы могут быть:

1. Формирование «сшивок» между белками и фосфолипидами, приводящие к изменению физико-химических свойств мембраны (Рисунок 18).

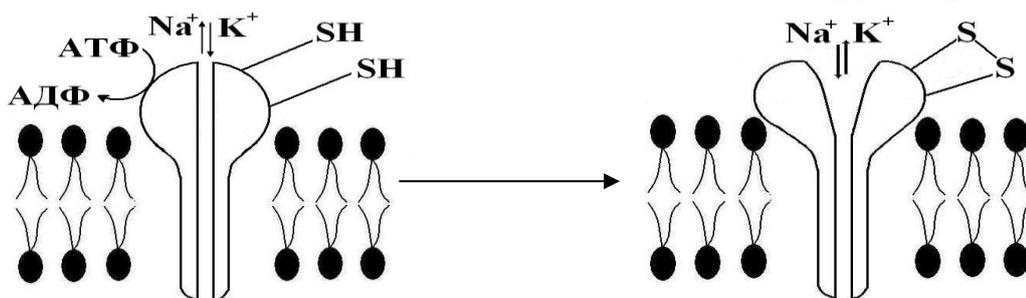


Рисунок 18 - Нарушение работы Na^+/K^+ насоса при окислении его белковых сульфгидрильных групп (SH) свободными радикалами (CR). (Красников Е.В., 2008 г).

2. Изменение локализации концевых участков трансмембранных гликопротеидов, вызывающих нарушения работы клеточных рецепторов, изменение функции ионных насосов, повышение проницаемости плазмолеммы для катионов, анионов и других соединений.

3. Активация перекисного окисления липидов мембраны, которое сопровождается накоплением свободных радикалов, иницирующими дальнейшее распространение процессов перекисного окисления. Данный токсический эффект является опасным для клетки, так при этом изменяется и бислой липидов и тесно связанные с ним белковые и углеводные составляющие плазмолеммы.

Выше перечисленные изменения приводят к развитию патологических процессов в клетке: нарушаются рецепторные функции, трансмембранный перенос ионов и различных химических веществ, течение метаболических

процессов. Они могут приобретать необратимый характер, т.е. клетка войдет в стадию некролиза свободно-радикального вида и может завершиться ее гибелью (Рисунок 19).



Рисунок 19 – Свободно - радикальное повреждение клеток (оксидативный стресс, Сулаева О.Н. 2014г.)

Так как в организме постоянно образуются свободные радикалы, в клетке существует и *антиоксидантная система*, регулирующая степень активности («агрессивности») свободных радикалов и устранение негативных последствий

С целью изучения нарушений репродуктивного статуса у мужчин, проживающих в зонах экологического неблагополучия, нами было исследовано состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ), т.к. процесс липопероксидации может быть использован в качестве маркера патоморфологических изменений в эякуляте.

По многочисленным литературным данным, существенная роль в процессах повреждения клеток принадлежит разыгрывающемуся в мембранах перекисному свободнорадикальному окислению липидов.

Для оценки характера нарушений при комплексном воздействии негативных факторов в регионах Приаралья (Кызылординской области) проведен анализ состояния процессов липопероксидации и антиоксидантного статуса в сперме у мужчин разных возрастных групп проживающих в зонах экологического кризиса и экологической катастрофы.

Известно, что в условиях длительного воздействия неблагоприятных факторов среды на репродуктивную систему нарушается состояние процессов перекисного окисления липидов и активность ферментов АОЗ.

У мужчин проживающих в зоне экологического кризиса наблюдалась активация процессов свободного радикального окисления, о чем свидетельствует увеличение уровня диеновых конъюгатов, кетодиенов и совокупных первичных и вторичных продуктов, особенно выраженного у мужчин возрастной группы 40-49 лет.

При оценке малонового диальдегида (МДА) в сперме у мужчин проживающих в зоне экологического кризиса, выявлено снижение уровня по сравнению с показателями у мужчин, проживающих в зоне экологической катастрофы во всех возрастных группах.

Анализ активности ферментов АОЗ - каталазы и пуринового обмена (аденозиндезаминазы) не выявил значительной разницы между показателями у лиц, проживающих в зонах экологического кризиса и экологической катастрофы, всех возрастных групп.

Общая антиоксидантная активность в сперме у мужчин отличается вариабельностью в зонах экологического кризиса и экологической катастрофы у мужчин всех возрастных категорий.

При активации процессов ПОЛ, свободные радикалы, обладающие высокой реактивностью, могут взаимодействовать с липидами, белками, нуклеиновыми кислотами, в результате, возникающие деструктивные процессы приводят к появлению продуктов окисления и деградации полимеров, известных как молекулы средней массы.

Таким образом, наши исследования показали, что при длительном воздействии экотоксикантов на эякулят у мужчин различных возрастных групп наблюдаются нарушения процессов ПОЛ – АОЗ, эти нарушения носят разнонаправленный характер, динамика изменения индивидуальных показателей ПОЛ в сперматозоидах отличается гетерохронностью и степенью аккумуляции катаболитов.

Выявленные асинхронные изменения активности ферментов АОЗ в сперматозоидах демонстрируют нарушение процессов сперматогенеза, о чем свидетельствуют стойкие нарушения показателей морфофизиологических характеристик сперматогенеза у обследованных мужчин.

По нашему мнению, пыле-солевые аэрозоли и повышенный радиационный фон в зонах Приаралья индуцируют нарушение ПОЛ в сперматозоидах разными путями, данные изменения носят опосредованный характер за счет реакционно способных катаболитов липоперекисного каскада (ЛПК) и АФК. Известно, что избыток катаболитов ЛПК способствует развитию окислительного стресса в клетках.

Этим, по нашему мнению, и объясняется более высокий уровень аккумуляции продуктов ПОЛ в сперматозоидах.

Повреждение половых клеток, в свою очередь, индуцирует образование АФК и токсичных липоперекисей и, соответственно, появление новых цепей окисления. Вследствие мембранной деструкции, АФК и токсические липоперекиси могут выходить в кровь, способствовать поддержанию состояния стойкого окислительного стресса и являться пусковым механизмом развития патофизиологических процессов различного генеза в организме.

На наш взгляд, такие изменения в зоне экологического неблагополучия связаны не только с повышенной концентрацией пыле – солевых аэрозолей, но и влиянием запусков с космодрома «Байконур» и разработкой радиоактивных руд на близлежащих территориях и не качественной питьевой воды, наличием ряда экотоксикантов.

По нашему мнению, выявленные нарушения со стороны эндокринной системы, в свою очередь приводят к изменениям иммунной и репродуктивной систем.

Как известно, при изменении уровня гормонов щитовидной железы и при гипотиреозе существует дефицит тиреоидных гормонов, необходимых для обеспечения основного обмена, тканевого дыхания, механизмов внутриклеточной передачи сигнала, в том числе приводящих к изменению уровней общих фракций тестостерона и биологически активных веществ в клетке.

На наш взгляд, развитие патологий щитовидной железы у обследованных лиц Приаралья приводят к изменению синтеза, транспорта, метаболизма половых гормонов, приводящих к нарушению процессов сперматогенеза у мужчин и нарушений менструального цикла у женщин репродуктивного возраста, что в свою очередь, является пусковым механизмом снижения фертильности, невынашивания беременности и патологии развития плода, о чем свидетельствуют полученные результаты гинекологического, цитоморфологического исследования влагалищных мазков у женщин и показатели морфофизиологических характеристик сперматогенеза.

Установлено, что в зоне экологической катастрофы и у мужчин и у женщин наблюдаются признаки иммунодефицита по содержанию иммуноглобулинов G и M во всех возрастных группах, о чем свидетельствуют результаты лабораторного исследования о нарушении иммунной системы у всех обследованных лиц. У населения Приаралья выявлены иммунопатологии различного генеза: снижение противоинфекционного иммунитета и повышение активности аллергического ответа.

Согласно литературным данным и результатам собственного исследования, снижение адаптационно-компенсаторных реакций может быть механизмом развития иммунопатологии во взаимосвязи с нарушением внутриклеточных метаболических процессов, нарушением рецепторной функции, нарушение процессов сигнализации приводящие к развитию патологических процессов различного генеза на молекулярно-клеточном уровне при воздействии экотоксикантов различного происхождения.

Выше перечисленные факторы окружающей среды, по нашему мнению, вызывают нарушение морфодифференцировки спермиев на этапе превращения сперматид в сперматозоиды, изменение транспорта веществ, особенно ионов кальция и цинка, липидных и белковых компонентов приводящих к отклонению энергетического статуса половых клеток. Вполне допустимо, что образующиеся свободные радикалы, токсичные липоперекиси, в том числе и в мембранах клеток, приводят к дестабилизации мембран, к нарушению внутриклеточного транспорта.

Исходя из полученных нами данных, изменение содержания катаболитов и активности ферментов АОЗ, в свою очередь приводят к снижению подвижных форм и развитию атипичных форм сперматозоидов (деформация головки, удвоение аксонемы) у обследованных мужчин репродуктивного

возраста, о чем свидетельствуют нарушения эндокринного, иммунного статусов.

Стресс, вызванный перекисным окислением свидетельствует об активной деятельности свободных радикалов при недостаточной и неэффективной антиоксидантной защите (Рисунок 20). ПОЛ и антиоксидантная работа в идеале должны быть в физиологическом равновесии.



Рисунок 20 – Влияние окислительного стресса на различные органы человеческого организма

Оксид азота (NO) играет большую роль для адаптации организма к воздействию экологических факторов: влияние пыле-солевых аэрозолей, пестицидов, тяжелые металлы и др. промышленные отходы. Разработка методов регуляции синтеза, поддержания физиологического уровня концентрации эндогенного оксида азота в клетках, органах и в организме в целом, несомненно представляет как научный, так и практический интерес.

На наш взгляд, влияние экзогенных и эндогенных факторов на организм приводят к развитию окислительного стресса, последствием которого являются тяжелые нарушения клеточного метаболизма, так как при развитии всех патологий характерно усиление свободно радикальных процессов и снижение активности АОЗ. В настоящее время окислительный стресс является наиболее социально значимой проблемой.

С учетом вышеизложенного нами проведено определение количественного содержания МДА в плазме крови у мужчин и женщин, проживающих в исследуемых регионах, как дополнительного критерия развития окислительного стресса и маркера перекисного окисления липидов, с применением спектрометрического метода и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Исходя из полученных нами данных, повышение образования свободных радикалов и развитие окислительного стресса в плазме крови у мужчин и женщин показали разнонаправленный характер изменений. На наш взгляд нарушения процессов свободно радикального окисления в клетках приводят к нарушению межклеточных контактов, целостности мембраны и передачи сигналов клетке.

Другим, очень важным звеном в патогенезе повреждения клетки, являются структурно-функциональные изменения ее органелл.

1.5 Структурные и функциональные нарушения и патологии органелл клетки

Эукариотическая животная клетка содержит множество сложных компонентов, обладающих различными формами, размерами и выполняющими различные функции. Эти структуры являются *функциональными блоками клеток*.

Цитоскелет представлен системой микротрубочек, имеющих диаметр 20-25 нм, промежуточных филаментов с диаметром 15 нм, а также тонких актиновых (6-8 нм) и толстых миозиновых (15 нм) филаментов.

Увеличение количества микрофиламентов выявлено в клетках злокачественных опухолей, а также микрофиламентная активность характерна и для репаративных процессов, как например, для заживления ран.

Нарушения метаболизма промежуточных филаментов (десмина) могут вызывать некоторые формы *кардиомиопатий*. Описана необычная форма кардиомиопатии с прогрессирующей недостаточностью миокарда, которая характеризуется массивными отложениями в кардиомиоцитах PAS-негативного материала, состоящего из промежуточных филаментов. Также аккумуляция промежуточных филаментов в клетках эпителиального и мезенхимального происхождения, является морфологическим маркером хронического алкоголизма.

Элементы цитоскелета способны к самосборке и обратимой полимеризации и состоят из глобулярных и фибриллярных белков:

Микротрубочки состоят из тубулина, микрофиламенты состоят из актина и миозина, а промежуточные филаменты представлены *кератинами, десмином и виментином*.

К тяжелым повреждениям микротрубочек приводит ионизирующее излучение, при этом страдает наследственный аппарат клетки, могут возникать патологические митозы. Резкое уменьшение числа микротрубочек (особенно в гепатоцитах) наблюдается при воздействии этанола, они округляются, вытесняются промежуточными филаментами.

Патология микротрубочек может быть основой некоторых клинко-морфологических синдромов, например, *синдром неподвижных ресничек* (синдром Картагенера), при котором реснички покровного эпителия дыхательных путей и слизистой оболочки среднего уха, основой строения

которого являются дефектные микротрубочки, малоподвижны. Поэтому мукоцеллюлярный транспорт ослаблен или отсутствует, что приводит к хроническому воспалению дыхательных путей и среднего уха. У таких больных неподвижны также и сперматозоиды, так как их хвост эквивалентен ресничкам.

Основной функцией цитоскелета является поддержание и стабилизация формы клеток, обеспечение их *движения* (деятельность ресничек, жгутиков, ундулирующих мембран) и внутриклеточного перемещения органелл и включений. Элементы цитоскелета участвуют в передаче сигналов в клетку от различных рецепторов, процессах миграции клеток и их прикреплении к межклеточному веществу.

Обработка пространственно-временной информации при участии цитоскелета способна «предопределять» судьбу клетки и является внутренней детерминантой поведения отдельно взятой клетки, оценивает топологические свойства поверхностей, а центриоль является главным пространственно-временным координатором в жизни клетки.

При повреждении цитоскелета под влиянием онкобелков может произойти трансформация в злокачественных клетках и вызвать необратимое фосфорилирование цитоскелетного белка винкулина, который участвует в прикреплении клеток к межклеточному веществу, поэтому злокачественные клетки могут легко отсоединяться от межклеточного вещества и покидать свои места, что считается важным механизмом их способности расселяться по организму или *метастазировать*.

На рисунке 21, показано строение типичной эукариотической клетки. Самая крупная органелла на рисунке - **ядро**, которое представляет компартмент для хранения генетической информации, имеет округлую или продолговатую форму, в зависимости от типа клетки размер ядра может быть в пределах от 2 до 20 мкм. Большинство клеток, за исключением клеток скелетной мускулатуры и некоторых высокоспециализированных клеток иммунной системы, содержит одно ядро.

Вокруг ядра расположена сеть из трубочек или мешочков - **эндоплазматический ретикулум (ЭПР)**, или **эндоплазматическая сеть**, которая представлена двумя видами: гладким или шероховатым. На поверхности шероховатого эндоплазматического ретикулума расположены **рибосомы** – органеллы синтеза белка.

Рибосомы также могут находиться в цитоплазме в свободном виде. Поверхность гладкого эндоплазматического ретикулума, участвующая в синтезе липидов, организована иначе, так как гладкий эндоплазматический ретикулум служит основным резервуаром для ионов кальция.

В мембранах эндоплазматического ретикулума присутствуют Ca^{2+} -насосы, которые, используя энергию, высвобождающуюся в результате гидролиза АТФ, транспортируют Ca^{2+} из цитоплазмы в полость эндоплазматического ретикулума, который может быть быстро высвобожден в ответ на повышение концентрации сигнальных молекул.

Для агранулярной эндоплазматической сети возможны морфологические изменения, приводящие к нарушению функций этой органеллы, среди которых главные это гиперплазия и атрофия.

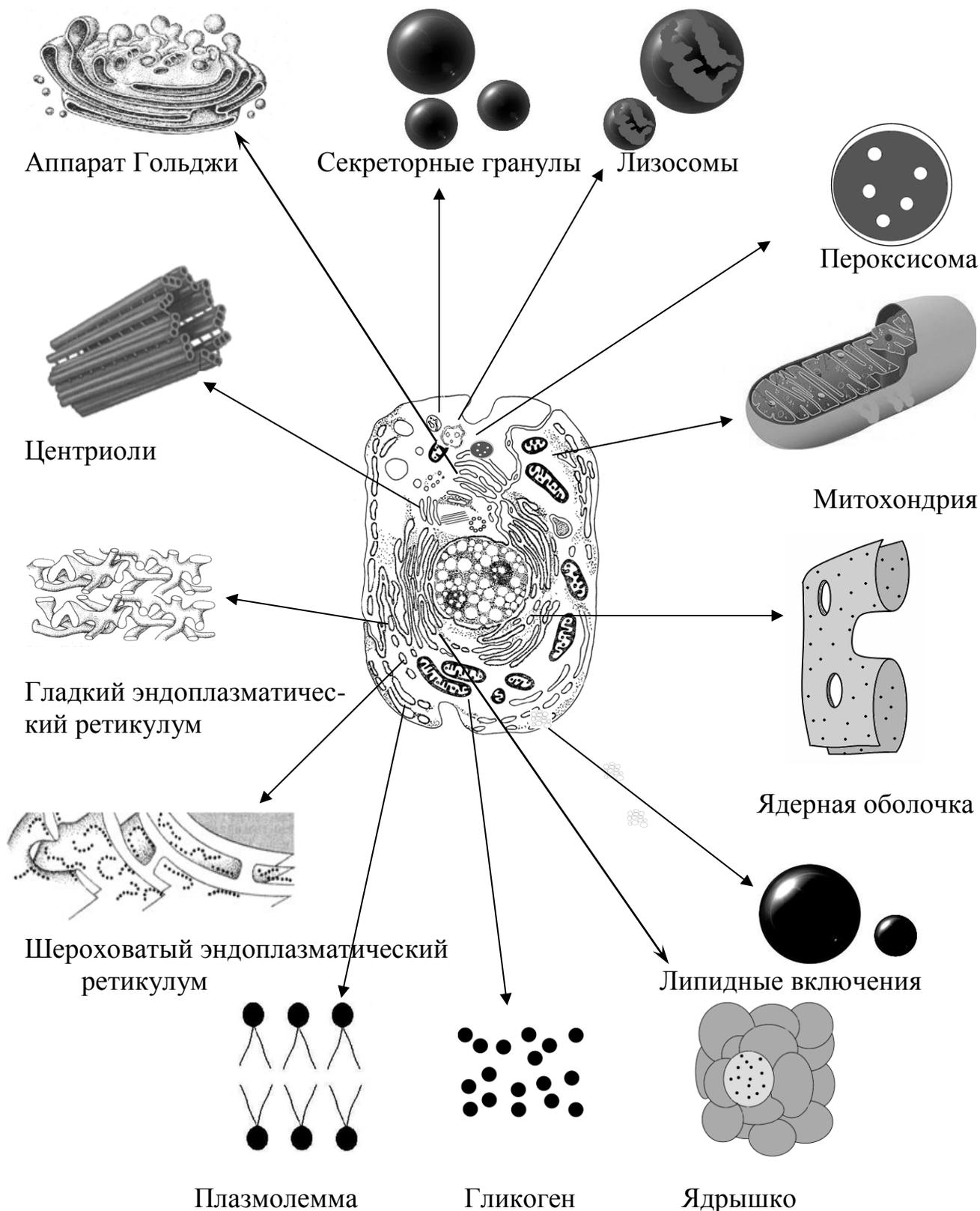


Рисунок 21 - Схема строения эукариотической клетки (Красников Е.В., 2008 г.)

Гиперплазия мембран ЭПР связана с расширением ее канальцевой системы, что приводит к усилению метаболической активности и нарушению внутриклеточного транспорта метаболизируемых веществ различных веществ (белков, липидов, лекарственных средств, которые накапливаются в канальцах и цистернах ЭПР).

Атрофия с последующей редукцией гладкой эндоплазматической сети проявляется при белковом голодании, при остром или хроническом воздействии на клетку различных ядов и токсических веществ.

При нарушении функции ЭПР могут произойти активация оксидаз гладкого эндоплазматического ретикулума и повышение уровня оксида азота, а избыток NO ведет к развитию патологических процессов (блокирование цикла Кребса).

При усиленном образовании окиси азота образуются свободные кислородные радикалы, вызывающие вторичные повреждения клеточных мембран, нуклеиновых кислот и других компонентов клеток.

Комплекс Гольджи по структуре напоминает стопку сильно-уплощенных цистерн, количество и размер которых зависит от типа клетки. В комплексе Гольджи происходят посттрансляционные модификации белка, в ходе которых синтезированные белки химически модифицируются и определяется их дальнейшая субклеточная локализация. Аппарат Гольджи способен повреждаться при многих приобретенных или наследственных нарушениях, так как он отвечает за образование и наполнение лизосом, поэтому его повреждения связывают с лизосомальной патологией.

Лизосомы - относятся к пищеварительным органеллам клетки, крупная замкнутая структура в виде мешочка, во внутреннем пространстве часто содержит несколько меньших круглых пузырьков, называемых экзосомами.

Цитоплазма содержит множество других органелл, которые неразличимы по форме. Это эндосомы, пероксисомы и транспортные пузырьки.

Несмотря на разнообразие, все клеточные органеллы состоят из одних и тех же структурных компонентов. Каждая органелла включает мембрану, которая ограничивает внутреннее пространство и формирует поверхность. Биохимические и физические свойства мембран, ограничивающих органеллы, определяют их свойства и функции.

Ядро окружено двойной мембраной, **наружная мембрана** покрыта рибосомами и продолжается мембранами шероховатого эндоплазматического ретикулума. **Внутренняя мембрана** гладкая и обращена к внутреннему пространству, или кариоплазме. Полость между двумя мембранами ядра связана с полостью шероховатого эндоплазматического ретикулума. Внутренняя и наружная ядерные мембраны принимают участие в формировании ядерных пор, которые образуют каналы в мембране ядра для транспорта веществ между цитоплазмой и кариоплазмой. Например, РНК синтезированные в процесса транскрипции проходят через ядерные поры. Сигнальные молекулы, проникающие в ядро и синтезируемые в цитоплазме ядерные белки, проникают через ядерные поры.

Ядерные поры обладают избирательной проницаемостью. Для того чтобы иметь возможность пройти через ядерную пору цитоплазматические белки должны иметь определенную последовательность, называемую сигналом ядерной локализации. Эти данные также указывают на возможность контроля ядерной локализации белков со стороны сигнальных систем вторичных посредников.

Обращённая в кариоплазму поверхность ядерной мембраны соединяется с фибриллярным белковым скелетом, называемым **ядерной пластинкой**. Внутренняя поверхность ядерной оболочки подстилается ядерной ламиной - жёсткой белковой структурой, образованной белками-ламинами, к которой прикреплены нити хромосомной ДНК.

Ламины прикрепляются к внутренней мембране ядерной оболочки при помощи заякоренных в ней трансмембранных белков – **рецепторов ламин**. К основным функциям ядра относятся: хранение и передача наследственной или генетической информации, репликация, регуляции метаболических процессов, биосинтеза белка и митотической активности клеток.

К патологическим процессам клетки можно отнести структурные и функциональные нарушения ядра. В свою очередь патологический процесс ядра взаимосвязана с повреждением оболочки ядра, которые характеризуются нарушениями функции ДНК, сигнализации, транспортных и информационных РНК, гистоноподобных белков, медиаторов, ионов.

Степень нарушений от повреждающего действия патогенных факторов на состояние генома и синтеза белка в клетке зависит от фаз клеточного цикла. В интерфазу значительно преобладают нарушения синтеза белка и ферментов, необходимых для жизнедеятельности и роста клетки, межклеточных взаимодействий. В клетках, которые находятся в митотическом цикле, в фазах G^1 и G^2 , преобладающую роль играют изменения структуры и функции хромосом, которые развиваются при воздействии на ДНК различных факторов и появления внеклеточных ДНК, РНК, которые можно использовать в качестве маркеров патологических процессов.

Учитывая вышеизложенное, для более глубокой оценки состояния репродуктивной функции мужчин кроме морфофизиологической характеристики сперматозоидов нами были проведены молекулярно-генетические исследования кислоторастворимых фракций (КРФ), внеклеточных нуклеиновых кислот (РНК, ДНК) и гистоноподобных фракций (H_1, H_2A, H_3, H_4) в эякуляте у мужчин в зоне экологического бедствия Кызылординской области.

При нарушении ядра в цитоплазме появляются внеклеточные ядерные структуры КРФ, ДНК и РНК.

Внеклеточные ДНК в соматических клетках (в крови) является регулятором целого ряда физиологических процессов, а также может выступать в качестве маркера различного рода заболеваний.

Ранее Коновой И.Л. было показано, что при стрессорной нагрузке концентрация внеклеточных ДНК в крови возрастает.

Активные формы кислорода вызывают окислительную деградацию белков в клетках. Объектом поражающего действия для АФК зачастую являются ядерные белки. Они, особенно белки, входящие в состав хроматина, в значительной степени определяют уровень функциональной активности клетки.

Многочисленные исследования показали наличие тесной связи между количественным содержанием отдельных фракций белков хроматина, их количественные колебания относительно ДНК могут служить отправными точками при оценке синтетического и пролиферативного уровня в клетках и тканях.

При метаболических процессах происходит нарушение всех синтетических и пролиферативных процессов, которые непосредственно затрагивают ядерные структуры клеток. Учитывая, что изменение генерации активных форм кислорода может оказывать влияние на надмолекулярные комплексы и нуклеиновые кислоты нами было проведено определение содержания КРФ, РНК, ДНК в сперме, а также H_1 , H_2A , H_3, H_4 , H_2B фракций гистонподобных белков. Существенную роль в процессе повреждения ДНК могут играть продукты перекисного окисления липидов.

По результатам нашего исследования циркулирующих внеклеточных ДНК и РНК в сперматозоидах мужчин зафиксировано их снижение при соответствующем увеличении кислоторастворимых предшественников, что можно объяснить деградацией нуклеиновых кислот при воздействии комплексных негативных факторов в зоне экологического неблагополучия. По результатам исследования, у мужчин, проживающих в зонах экологической катастрофы Приаралья, в возрасте от 18-29 лет, установлено повышенное содержание H_1 гистонов, снижение общей фракции H_2A , H_3 , H_4 – гистонов и резкого увеличения содержания H_2B – гистонов.

Результатом деструктивного действия АФК и токсичных продуктов перекисного окисления липидов на хроматин мужских половых клеток может быть окислительная деструкция белковых молекул, которая приводит к нарушению нативной конформации белков. Данные нарушения вызывают распад хроматина, нарушение экспрессии генов и соответственно нарушения функции сперматозоидов.

Полученные нами данные раскрывают ряд метаболических нарушений в процессах сперматогенеза и свидетельствуют о перераспределении гистоновых фракций в сперме мужчин в зонах экологического бедствия, что показывает вовлечение генетических структур в патологический процесс.

Митохондрии это органеллы представленные наружной и внутренней мембраной и имеющих два внутренних компартмента: межмембранное и матриксное пространство. Поверхность внутренней мембраны образует крупные складки - *кристи*, являющиеся основным местом синтеза АТФ, поэтому митохондрии являются энергетическими станциями клеток. Многие внутриклеточные реакции также локализованы и катализируются в митохондриях.

В **митохондриях** происходит важный для клеток процесс окислительного фосфорилирования за счёт окисления метаболитов.

Митохондрии имеют и реплицируют собственный генетический аппарат, представленный кольцевой молекулой ДНК, кодирующей *митохондриальные транспортные РНК (тРНК)*. Белки, закодированные в митохондриальной ДНК, составляют лишь небольшую часть белков, а основная часть *митохондриальных* белков кодируется ядерной ДНК и синтезируется на рибосомах *цитоплазмы*.

Кроме основной функции обеспечения клетки энергией, митохондрии служат резервуаром внутриклеточного Ca^{2+} , высвобождение которого вследствие энергетического голода приводит к повреждению и гибели клетки, поэтому митохондрии играют важную роль в **апоптозе**, или запрограммированной гибели клетки. Определённые внешние или внутренние сигналы активируют сигнальный каскад, который в итоге приводит к активации ферментов, вызывающих самоуничтожение клетки.

Органические вещества, поступающие в организм, обладают определенным запасом энергии, в митохондриях происходит «освобождение» основного количества свободной энергии и ее аккумуляция в виде АТФ на заключительном этапе катаболизма.

К изменениям структуры митохондрий относится их конденсация, набухание и появление митохондриальных включений, они обратимы, но при прогрессировании могут привести к тяжелой деструкции митохондрий и последующей гибели клетки. Набухание митохондрий сопровождается уплотнением внутреннего матрикса, деформацией крист, потерей митохондриальных гранул и возникновением разрывов наружной мембраны митохондрий.

Число митохондрий в клетках может варьировать, увеличение их числа (гиперплазия), отражает активацию окислительного фосфорилирования, что возможно при гипертрофии, пролиферации и трансформации клеток, особенно после повреждения ткани. Большое количество митохондрий характерно для онкоцитов и онкоцитарных опухолей. Уменьшение числа митохондрий происходит при регрессивных процессах старения клеток или их атрофии.

Наследственная патология митохондрий. В организме человека происходит постоянное обновление митохондрий, их количество значительно возрастает при увеличении функциональной нагрузки клетки и при гипоксии. Мутации генов, которые отвечают за синтез белков митохондрий, могут быть не смертельными для клеток, но ткани с высокой потребностью кислорода (нервная, мышечная), характеризуются тяжелыми структурно-функциональными нарушениями, что приводит к развитию патологий или **«митохондриальным болезням»**.

Митохондриопатии обычно наследуются цитоплазматически по материнской линии через яйцеклетку, могут проявляться в любом возрасте (от младенчества и до старости) и клинически выражаться в поражении головного мозга и мышц.

Заболевания имеют множественную симптоматику, например слабость, сниженную толерантность к физическим нагрузкам, миопатию, энцефалопатию, кардиомипатию. Тяжелые формы наследственных митохондриопатий могут заканчиваться летально. Больные с легкой формой заболевания поддаются лечению, но и они могут приводить к прогрессирующей дегенерации нервной системы.

Лизосомы. В клетке постоянно накапливаются различные отходы или продукты метаболизма, вызывающие повреждения органелл и нарушение их функций, денатурацию и агрегацию белков клетки. Из внеклеточной среды в клетку постоянно поступают эндоцитируемые молекулы и частицы. Для специализированных клеток иммунной системы макрофагов, захват чужеродного материала путём эндоцитоза является основной функцией клетки.

В норме все клетки имеют механизмы для утилизации этих веществ, так как лизосомы содержат множество различных лизирующих ферментов, способных расщеплять продукты жизнедеятельности клеток, переваривать как внутриклеточные субстраты, так и поступившие в клетку извне.

Существует группа редких наследственных заболеваний, называемых болезнями накопления лизосом, которые развиваются в результате дефицита лизосомных ферментов, принимающих участие в расщеплении различных веществ. Мембрана лизосом устойчива к действию ферментов, которые она изолирует от цитоплазмы, гарантируя таким образом поддержание условий, необходимых для эффективного расщепления и защиту клетки от действия этих факторов. Нарушение целостности мембран лизосом может лежать в основе некоторых воспалительных заболеваний, таких как подагра.

Вещества и частицы, проникающие в клетку из внешней среды путём эндоцитоза, окружены мембраной *эндоцитозного пузырька*. Для доставки этих веществ в лизосому, эндоцитозный пузырек сливается с мембраной лизосомы и высвобождает свое содержимое внутрь лизосомы.

Поврежденные или изношенные внутриклеточные структуры, подлежащие утилизации, окружаются мембраной лизосомы и «эндоцитируются» в процессе *аутофагии*.

Механизмы секреторного пути, обеспечивающие отпочковывание транспортных пузырьков от мембраны комплекса Гольджи, также способны обеспечивать перенос вещества в обратном направлении, образуя пузырьки путём инвагинации участков плазматической мембраны в процессе *эндоцитоза*, который необходим клетке, так как некоторые питательные вещества имеют слишком большие размеры для переноса из внеклеточного пространства внутрь клетки трансмембранными белками-переносчиками.

Эндоцитоз останавливает сигнальные процессы, которые были запущены многими гормонами, удаляет чужеродные белки и инфекционные агенты, которые из внеклеточного пространства поступают в клетку и впоследствии подвергаются расщеплению в лизосомах.

В связи с тем, что судьба веществ, поглощенных в процессе эндоцитоза, может быть различной, существуют сортировочные механизмы эндоцитозного пути, которые позволяют клетке направлять эти вещества в соответствии с их предназначением.

Эндоцитоз жидкостей - это поглощение веществ, растворённых во внеклеточной жидкости и связанных с рецепторами на поверхности клетки, при участии белка клатрина. Завершение процесса формирования клатринового каркаса приводит к формированию замкнутого пузырька, который отсоединяется от поверхности клетки посредством слияния мембран. Образовавшийся в результате пузырек под действием ферментов теряет свою клатриновую оболочку и сливается с органеллами, называемыми эндосомами.

Патология лизосом. Лизосомы могут содержать до 60 и более гидролитических ферментов, способных расщеплять белки, жиры, углеводы, другие соединения и разрушать ненужные внутриклеточные структуры.

Основной функцией лизосомальных гидролитических ферментов железистых клеток и гепатоцитов являются удаление избытка гормонов и биологически активных веществ. Лизосомы являются главными пищеварительными органеллами клетки, их мембрана отличается стабильностью и не разрушается при наличии в лизосоме большого количества гидролитических ферментов и свободных радикалов. Синтез гидролитических ферментов и белков для мембран лизосом происходит на шероховатом эндоплазматическом ретикулуме, затем в комплексе Гольджи происходит их «сортировка» и «упаковка». Лизосомы различают:

1) *первичные* – которые не содержат субстрата, но могут осуществлять секрецию гидролитических ферментов в окружающую среду (экзоцитоз);

2) *вторичные* – содержат субстрат, обладают гидролитической активностью, формируются из первичных лизосом после поглощения субстратов: лизосомы способны к *аутофагии* после захвата и переваривания веществ и остатков разрушенных органелл. Лизосомы принимают участие в фагоцитозе и пиноцитозе, сливаясь с эндоцитозными пузырьками, с образованием фаголизосом, в которых вещества и частицы органелл подвергаются разрушению (гетерофагия); После процесса расщепления образуются остаточные тельца, которые или накапливаются, или выводятся из клетки путем экзоцитоза (Рисунок 22).

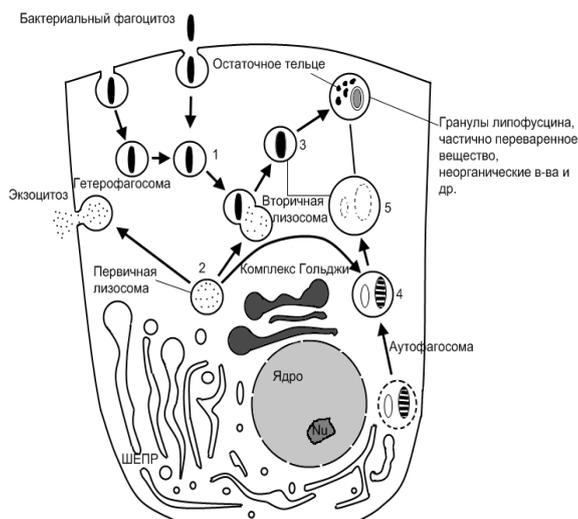


Рисунок 22 - Формирование и функционирование лизосом (Красников Е.В., 2008 г).

3) Белки, входящие в состав лизосомальных мембран синтезируются на мембране шероховатого эндоплазматического ретикулума (ШЭПР), переносятся в его полость, а гликозилируются в комплексе Гольджи. В лизосомах происходит внутриклеточное переваривание фагоцитированных частиц (1 – 3) и внутриклеточных веществ (4, 5).

В фаголизосомах и аутофагосомах имеется окислительный механизм уничтожения поглощенных объектов, который осуществляется при участии активных форм кислорода, образующихся в гладком эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях и пероксисомах.

Расщепление поглощенных веществ происходит с помощью окислительный механизма, с участием свободных радикалов, пероксида водорода, которые поставляют пероксисомы, ЭПС и митохондрии.

Патология лизосом возникают из-за нарушений проницаемости мембраны и изменением содержания гидролитических ферментов. При грубых нарушениях проницаемости лизосомальных мембран, наблюдается массивный выход ферментов в цитоплазму клетки и ее аутолиз, что характерно при некрозе.

Лизосомальные ферменты во *внеклеточной среде* приводят к альтерации окружающих структур и развитию воспалительных и дегенеративных процессов, появлению травм различного происхождения. Кристиан де Дюв назвал лизосомы «стартовой площадкой воспаления».

Активация протеолиза это один из важнейших биохимических механизмов развития патологического процесса - воспаления. При смещении реакции среды в очаге воспаления в кислую сторону происходит лабильности мембран лизосом, выхода в цитоплазму протеаз, с последующей активацией и протеолитической деструкцией вовлеченной в процесс клеток.

В результате действия протеаз микробных клеток и клеток макроорганизмов происходит выделение бактериальных токсинов. С помощью катепсинов патогенные простейшие (*Entamoeba histolytica*), разрушают клетки, в которых паразитируют, а клетки злокачественных опухолей проникают в ткани в ходе метастазирования. Поэтому катепсины можно рассматривать как прогностические маркеры рака, увеличение содержания которых показывают высокую вероятность метастазирования.

Аутолиз может являться звеном запрограммированной смерти клеток – *апоптоза*, и направлен на уничтожение старых и патологически измененных клеток.

Установлено, что повреждения мембран лизосом вызывают микотоксины, канцерогенные вещества, фосфолипазы, продукты перекисного окисления липидов. Дестабилизировать состояние мембран лизосом может гипоксия, нарушения кислотно-основного баланса, голодание, недостаток белков, изменения гормонального статуса, шок, травмы, оперативные вмешательства.

В повреждении лизосомальных мембран и их разрушении, играет роль «эндогенный детергентный эффект», который проявляется аутолизом и некрозом клеток. У аспергилла афлотоксины вызывают нарушения мембран гепатоцитов, приводя к аутолизу и некрозу клеток печени.

Гриб – *Fusarium sporotrichiella* – выделяет спорофузарин, который приводит к некрозу миндалин - септической ангине, развитию некротических процессов в костном мозге.

При повреждениях мембран лизосом может не наблюдаться выхода гидролитических ферментов, происходит снижение интенсивности внутриклеточного пищеварения, снижается роль ферментов лизосом в репаративной регенерации (восстановление внутриклеточных структур при их повреждении), снижение регуляторной функции лизосом. Не осуществляется должного очищения внутриклеточной среды от макромолекул и органоидов с модифицированной структурой, которые могут возникнуть при воздействии активных форм кислорода, перекиси водорода и случайных ошибок в ходе синтеза макромолекул. Повышенная проницаемость мембран лизосом усиливает способность злокачественных клеток к метастазированию и инвазивному росту.

Недостаток лизосомальных ферментов вызывает развитие *лизосомных болезней* или «*болезней накопления*» (тезауризмозов, от лат. thesaurismos – накапливание). При этой патологии лизосомы теряют способность расщеплять субстрат из-за дефектов какого-либо из ферментов, вследствие чего происходит накопление веществ в пространстве лизосом, что приводит к нарушению функции клетки и развитию патологии.

Наиболее распространенные болезни накопления липидов и гликолипидов -болезнь Тея-Сакса, наследственный галактоцереброзидоз – болезнь Краббе, мукополисахаридозы (болезнь Сан-Филиппа А, В, С, Д), гликогеноз 2 типа (болезнь Помпе или дефицит кислой мальтозы) и др.

Клинические проявления наблюдаются в тех органах и тканях, где интенсивно протекает расщепление субстрата наиболее часто проявляются нарушения психомоторного развития и иммунитета.

Для *липидозов* и *глико- (муко-) липидозов* характерно поражение ЦНС, потому что компоненты миелина и клеточных рецепторов (цереброзиды, сфинголипиды и их комплексы с углеводами) наиболее распространены в нервной ткани. При *гликогенозе Помпе* поражаются клетки, принимающие участие в метаболизме гликогена, поэтому наблюдается миокардиодистрофия, миопатия и нарушение функции гепатоцитов.

В результате соматической мутации лизосом может развиваться первичная недостаточность ферментов, приводящая к развитию дефектов, многие последующие изменения могут быть несовместимыми с жизнью клетки, или снизить ее резистентность (устойчивость) к воздействию различных факторов.

Нерасщепленные фрагменты клеточных структур, могут подвергаться перекисному окислению во вторичных лизосомах и превращаются в стабильный фермент *липофусцин*, увеличение его концентрации в клетке может свидетельствовать о процессах атрофии, *липофусцин* в клетках накапливается с возрастом и является *маркером старения* организма;

Непереваренные остатки могут сохраняться очень долго (до 30 и более лет), что может угрожать жизни клетки, так как они могут привести к аутолизу.

Лизосомы обладают *кумуляционным эффектом*, они способны накапливать канцерогенные вещества, значительно повышать их концентрацию, что создает реальную угрозу для трансформации клетки при их выходе в цитоплазму. Исследование процесса сортировки лизосомных ферментов было достигнуто благодаря существованию врождённого заболевания человека, связанного с генетическим дефектом в механизме сортировки. При лизосомных болезнях накопления отсутствие специфической гидролазы, или группы гидролаз, лизосомы теряют способность расщеплять определенные вещества, что в результате приводит к образованию переполненных лизосом, заполняющих объём цитоплазмы и к нарушениям функции клетки.

Изменения числа и структурных компонентов микротелец встречаются при различных патологиях человека, которые отражают нарушения оксидазно-каталазной активности клетки.

У человека выявлено повышение числа пероксисом в гепатоцитах при вирусном гепатите, лептоспирозе, а уменьшение числа пероксисом и снижение синтеза их ферментов наблюдаются в печени при воспалении и при опухолевом росте. Также дефекты при разрушении пероксисом выявлены при гиперхолестеринемии, причем их разрушение осуществляется путем аутолиза или аутофагии.

Патология пероксисом. В пероксисомах обнаружено около 50 ферментов, основной функцией является использование кислорода.

Пероксиомы содержат оксидазы, которые производят токсичный пероксид водорода – H_2O_2 (перекись водорода), в норме токсичность H_2O_2 минимальна, так как быстро расщепляется *каталазой* на кислород и воду, что приводит к обезвреживанию ряда химических соединений, например в клетках печени и почек, обеспечивает реакции детоксикации.

Пероксисомы так же участвуют в окислении жирных кислот, окислении мочевой кислоты.

При наследственной патологии пероксисом, связанной с дефектом ферментов выделена категория пероксисомных болезней, которые развиваются при недостатке или дефектов ферментов.

Больные с синдромом Целвегера погибают в первые месяцы жизни при иммунодефиците и гипоксии, при акаталаземии (дефекте каталазы) происходит атрофия альвеолярных перегородок, выпадение зубов, тонзиллит.

При различных повреждениях клетки происходит альтерация пероксисом, что характеризуется усилением процессов образования свободных радикалов, вызывающих развитие воспаления и дальнейшее повреждение клеток и тканей организма.

2 Нарушение информационных процессов в клетке

2.1 Основные этапы передачи сигналов в клетку

Клетка в процессе жизнедеятельности принимает различные сигналы, поступающие из окружающей среды, на которые она должна дать адекватный ответ. Природа поступающих в клетку сигналов может быть физической (давление, свет), химической (гормоны, биологические активные вещества). В распознавании сигналов участвует плазматическая мембрана клетки с последующим поэтапным подключением структур клетки для передачи сигнала в клетку. На мембране располагаются специфические рецепторы, способные соединиться с определенными лигандами и помогающими сигналу проникнуть внутрь клетки.

Плазмолемма участвует не только в распознавании, но и в агрегации (например, межклеточные контакты) как соседних клеток, так и клеток с компонентами внеклеточного матрикса (адгезионные контакты, адресная миграция клеток). Совокупность этих процессов - межклеточные взаимодействия.

Информационные межклеточные взаимодействия укладывается в схему, предусматривающую следующую последовательность событий: **сигнал** → **рецептор** → (**вторичный посредник**) → **ответ** (Рисунок 23).

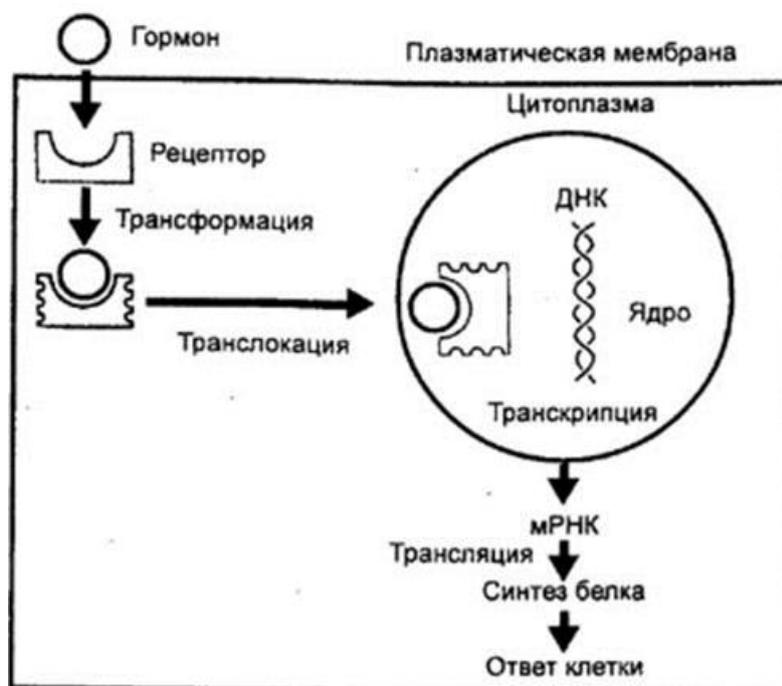


Рисунок 23 - Общая схема передачи сигнала в клетку
(интернет ресурсы (<http://www.medvuz.com/noz/226.php>))

Интегральные мембранные белки могут играть роль рецепторов. Информация, которой клетка обменивается с окружающей средой, должна

проходить через плазматическую мембрану. Обмен информацией это обмен любыми сигналами между клеткой и окружающей средой.

В передаче через мембрану любых сигналов, за исключением жирорастворимых сигнальных молекул, таких как стероидные гормоны, принимают участие мембранные белки. Трансмембранные белки подходят для передачи сигнала, так как контактируют с внеклеточным и внутриклеточным компартаментами, разделёнными мембраной.

Трансмембранные белки могут играть роль молекул адгезии. Клетки могут использовать интегральные мембранные белки в качестве **молекул адгезии**, для формирования контактов с окружающим внеклеточным матриксом (клеточно-матриксные молекулы адгезии) или с соседними клетками (межклеточные молекулы адгезии), что имеет большое значение для регуляции формы, роста и дифференцировки клеток.

Информация об окружающей клетку структурах и их природе должна передаваться внутрь клетки, чтобы клетка могла соответствующим образом адаптироваться к своему меняющемуся окружению. Большинство классов трансмембранных белков включено в эти процессы коммуникации.

Интегрины служат примером матриксных рецепторов, это большое семейство трансмембранных белков, которые осуществляют связь между клеткой и компонентами внеклеточного матрикса. Связывание интегринов с матриксными белками вызывает конформационные изменения в молекулах интегринов, которые распространяются на их внутриклеточные домены. В свою очередь активированные внутриклеточные участки через специфическое связывание с различными структурным и сигнальным молекулам, передают сигнал в клетку, что обеспечивает ответные реакции клетки на окружающую обстановку.

Помимо матриксных рецепторов, обеспечивающих связь клетки с внеклеточным матриксом существует несколько семейств молекул клеточной адгезии (кадгерины), обеспечивающих контактные взаимодействия между клетками. Трансмембранные молекулы клеточной адгезии, кроме функции поддержания структуры тканей, опосредуют передачу сигналов об окружении клетки, что позволяет клетке организовать и контролировать экспрессию генов в ответ на межклеточные контакты.

Молекулы адгезии управляют такими процессами, как направленная миграция иммунных клеток и направление аксонов в развивающейся нервной системе. Утрата клеточно-клеточных и клеточно-матриксных контактов служит диагностическим критерием метастатических опухолевых клеток.

Многие трансмембранные белки могут принимать участие в передаче сигналов, полученных с поверхности клетки, на эффекторы внутри нее. Благодаря способу заякоривания, эти белки расположены на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны рядом с внутриклеточными доменами рецепторов, передающих сигнал с внешней поверхности клетки через липидный бислой.

В последнее время было продемонстрировано медицинское значение такого типа ассоциации сигнальных молекул с мембраной. Например, что

предотвращение липидной модификации некоторых онкогенов предотвращает их присоединения к мембране и следовательно ликвидирует их способность индуцировать онкогенную трансформацию.

Периферические мембранные белки напрямую присоединены к наружной или цитоплазматической поверхности интегральных мембранных белков. Такой способ присоединения характерен для цитоскелета.

Так, цитоплазматическая поверхность плазматической мембраны эритроцита находится в тесном контакте с ячеистой структурой, состоящей из белковых тяжей - подмембранным *цитоскелетом*, состоящим из длинных волокнистых молекул спектрина, коротких полимеров белка актина и других белков.

Микротрубочки принимают участие в выполнении клеткой различных функций и её структурной организации, например, направляют аксоны нейронов. Микротрубочки также служат основанием для мембран эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи. Разрушение микротрубочек вызывает существенные структурные перестройки и везикуляцию этих органелл. Микротрубочки также играют центральную роль в делении клеток.

На начальных этапах митоза центриоли, образующие клеточный центр, делятся, образуя две centrosомы на противоположных полюсах делящегося ядра. От этих centrosом отходят микротрубочки, образующие *волокна веретена деления*, которые выстраивают хромосомы в одну линию. Их скоординированная сборка и разборка на разных концах микротрубочек позволяют разделить генетический материал во время анафазы митоза. В каждой дочерней клетке после митоза остается пара центриолей.

Структурные и двигательные возможности микротрубочек возможно наилучшим образом иллюстрируются их ролью в обеспечении подвижности.

2.2 Механизмы передачи сигнала в клетку

Для обеспечения передачи сигнала молекула должна связаться с рецептором. **Рецептор** это белок, локализованный на клеточной мембране или внутри клетки, который специфически связывается с сигнальной молекулой (лигандом).

В некоторых случаях рецептор представляет собой ионный канал, а присоединение лиганда вызывает изменение трансмембранного потенциала (Рисунок 24).

Таким образом, для передачи сигнала внутрь клетки не нужно ничего, кроме рецептора. Тем не менее, в большинстве случаев взаимодействие лиганда с одним или более специфическими рецепторами приводит к взаимодействию рецептора с эффекторными молекулами, инициирующими клеточный ответ.

Эффекторами могут быть ферменты, ионные каналы, транспортные белки, сократительные белки и факторы транскрипции. Способность клетки

или ткани отвечать на специфический сигнал определяется набором рецепторов, которыми она обладает, и цепью внутриклеточных реакций, которые инициируются при связывании лиганда со своим рецептором. На основании механизмов передачи сигнала все рецепторы можно разделить на четыре категории.

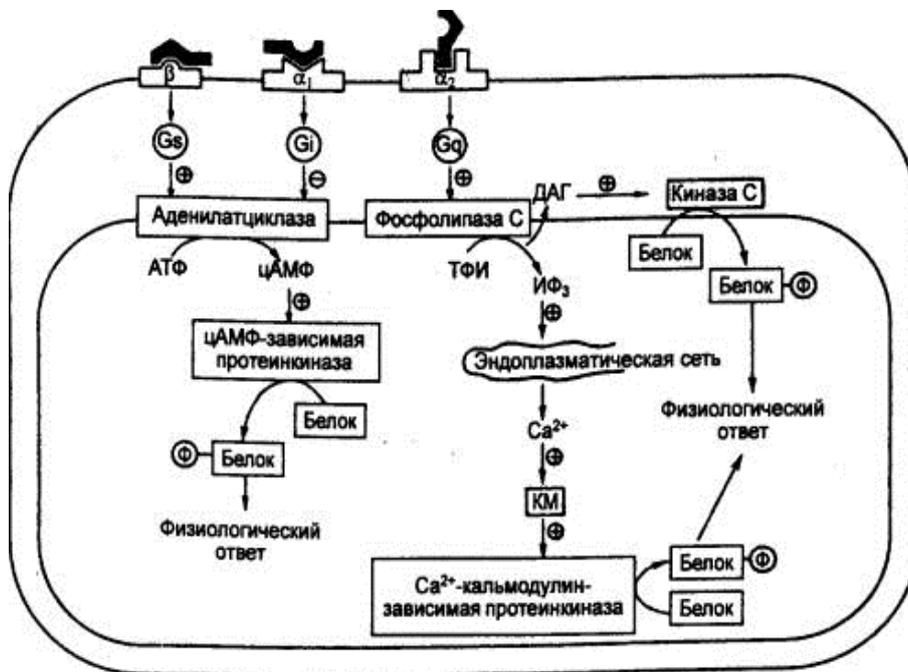


Рисунок 24 - Механизм проведения гормонального сигнала в клетке при участии вторичных посредников

(Gs – Gs-белок, G1-Gi-белок, Gq –Gq-белок; ИФ3- инозитолтрифосфат, КМ - кальмодулин, Ф - фосфат; α_1 , α_2 , β - субтипы рецепторов)
(интернет ресурсы (<http://www.medvuz.com/noz/226.php>))

- **Рецептор управляемые ионные каналы.** Интегральные мембранные белки, являющиеся одновременно и рецепторами и ионными каналами, участвующие в передаче сигнала между электрически возбудимыми клетками.

При связывании нейромедиатора, например ацетилхолина, с таким рецептором происходит временное открытие канала, и за счет ионного тока меняется трансмембранный потенциал.

- **Рецепторы, связанные с G-белком.** Интегральные белки плазматической мембраны действуют опосредованно, активируя или инактивируя связанные с мембраной ферменты или ионные каналы. Посредником выступает гетеромерный ГТФ-связывающий комплекс, называемый G-белком (Рисунки 25, 26, 27, 28).

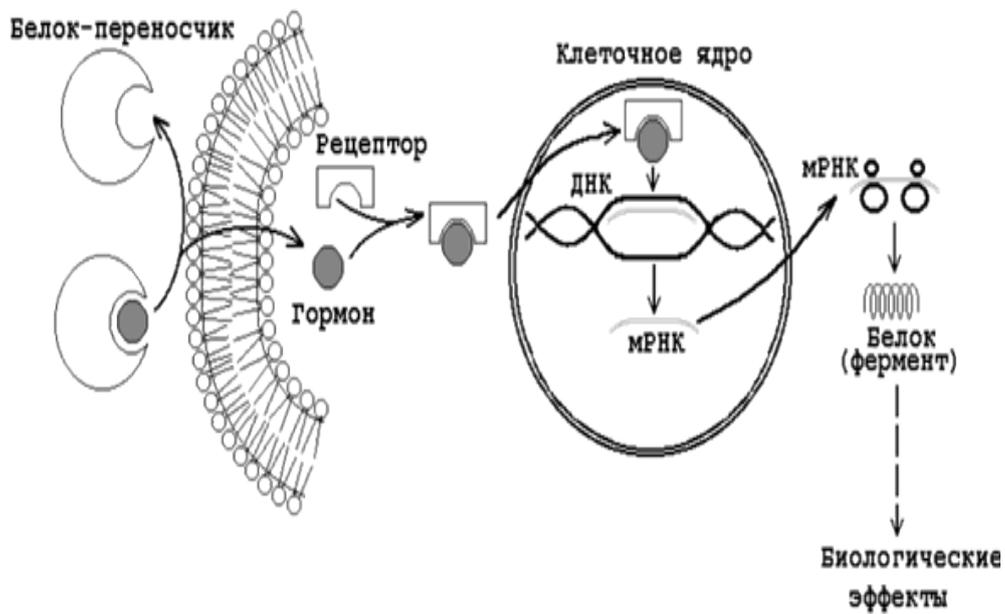


Рисунок 25 - Механизм влияния на клетку гормонов прямого действия (интернет ресурсы-<http://dendrit.ru/page/show/mnemonic/biohimiya/>)

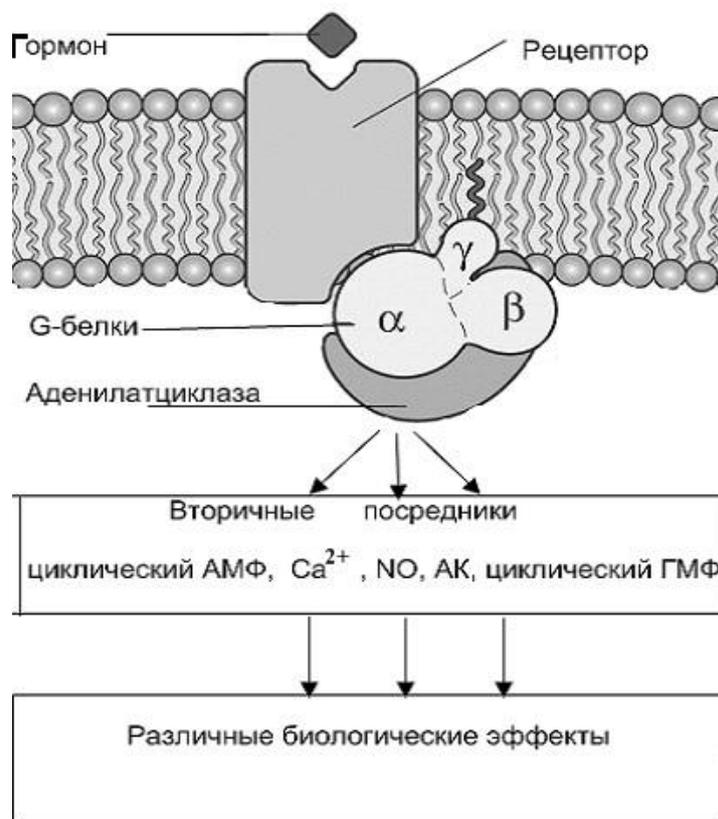


Рисунок 26 - Универсальная схема передачи внеклеточного сигнала в клетку (Яковлева О.В.)



Рисунок 27 - Механизм действия адреналина, вызывающего освобождения глюкозы из клеток печени

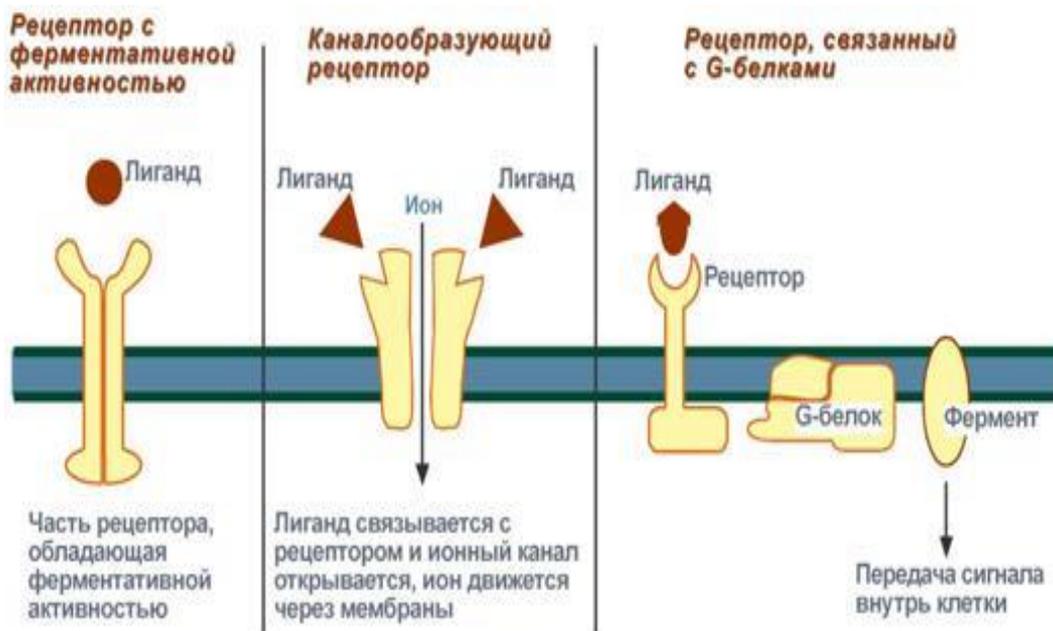


Рисунок 28 - Механизмы передачи сигналов в клетку с участием рецепторов (Северин Е.С., 2003 г.)

Каталитические рецепторы. При активации лигандом эти интегральные белки плазматической мембраны либо приобретают ферментативную активность, либо становятся частью ферментативного комплекса.

Ядерные рецепторы - эти белки, локализованные в цитоплазме или ядре, представляют собой активируемые лигандом факторы транскрипции рецепторы, передающие внешние сигналы в ядро, где реализуется сигнал в виде изменения транскрипции генов.

Активация аденилатциклазы, связанной с мембраной, приводит к образованию цАМФ, который активирует ферментные системы, расщепляющие гликоген до глюкозы, диффундирующая из клеток в кровеносное русло.

При взаимодействии лиганда с рецептором происходит активация внутриклеточного участка рецептора, наиболее изучен механизм действия инсулина, интерферона и пролактина.

Существуют различные виды рецепторов:

1. Рецепторы образующие каналы при соединении лиганда с рецептором происходит открытие ионного канала, по такому механизму работают нейромедиаторы.

2. Рецепторы, связанные с G-белками осуществляют передачу от гормонов и стимулируют синтез вторичных мессенджеров, которые передают сигнал внутрь клетки с участием комплекса ферментов.

Все процессы, инициируемые сигнальными мембранными рецепторами можно разделить на 5 этапов:

Этап 1. Распознавание лиганда соответствующим рецептором. Одна и та же сигнальная молекула может связываться более чем с одним видом рецепторов. К примеру, ацетилхолин способен связываться как с рецептор управляемыми ионными каналами, так и со связанными с G-белками рецепторами. Связывание лиганда с рецептором обеспечивают три типа слабых нековалентных связей, характерные в том числе и для субстрат-ферментных взаимодействий.

- *Ионные связи* образуются между противоположно заряженными группами.

- *Ван-дер-Ваальсовские взаимодействия* также имеют электростатическую природу, формируются диполями взаимодействующих атомов.

- *Гидрофобные взаимодействия* образуются между неполярными группами взаимодействующих молекул.

Этап 2. Передача внеклеточного сигнала внутрь клетки. Связывание с лигандом вызывает конформационные изменения всей молекулы-рецептора, при этом изменяется конформация участка рецептора, обладающего ферментативной активностью или взаимодействующего с мембранными или цитоплазматическими ферментами. Результатом активации ферментативной активности рецептора или взаимодействия активированного рецептора с эффекторным ферментом является генерация *второго посредника* или активация каталитического каскада.

Этап 3. Передача сигнала от вторичных посредников на эффектор. Вторичные посредники связываются с молекулами эффекторами и вызывая изменение их конформации, активируют или инактивируют их. Эффекторы представляют собой различные молекулы, такие как ферменты, ионные каналы и факторы транскрипции, обеспечивающие клеточный ответ на полученные клеткой внешние сигналы.

Этап 4. Ответ клетки на стимул. В связи с тем, что на клетку одновременно воздействует набор различных сигналов и в связи с тем, что сигнальные пути от них часто пересекаются (используют одни и те же вторые посредники и эффекторы) клеточный ответ является интегральной реакцией на множество сигналов.

Этап 5. Завершение ответа на стимул происходит благодаря существованию механизмов отрицательной обратной связи на большинстве этапов сигнального пути.

Основные этапы гормональных сигналов передачи показаны в следующих рисунках 29, 30, 31.

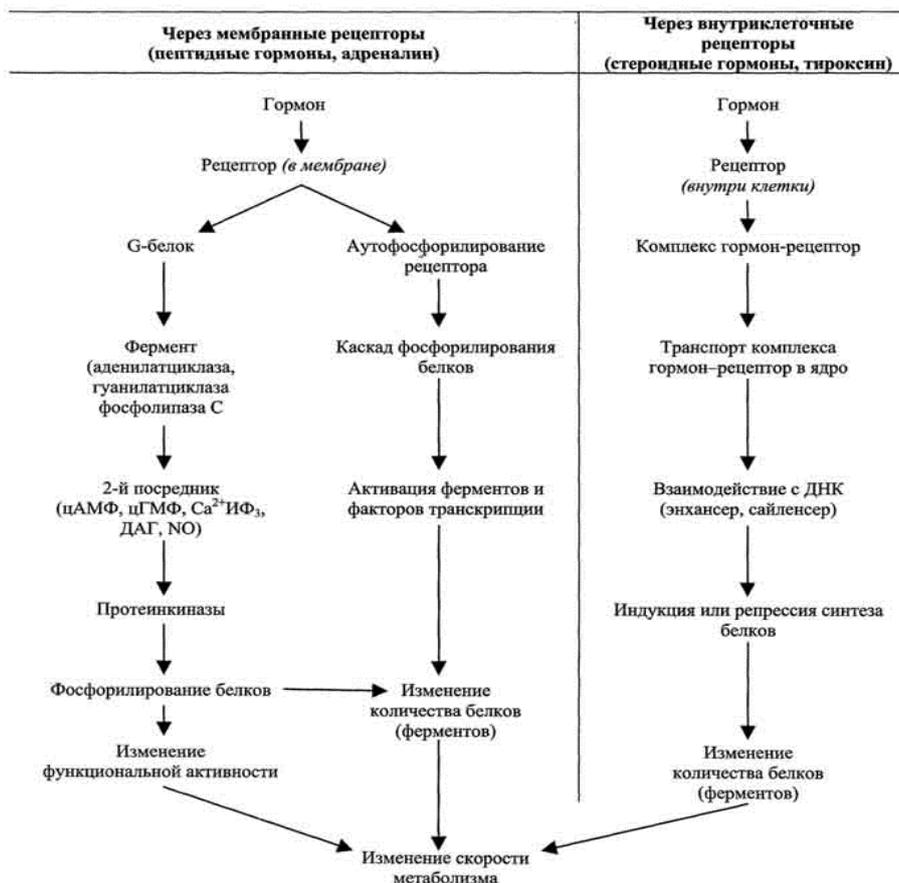


Рисунок 29 - Основные этапы передачи гормональных сигналов (Северин Е.С., 2003г.)

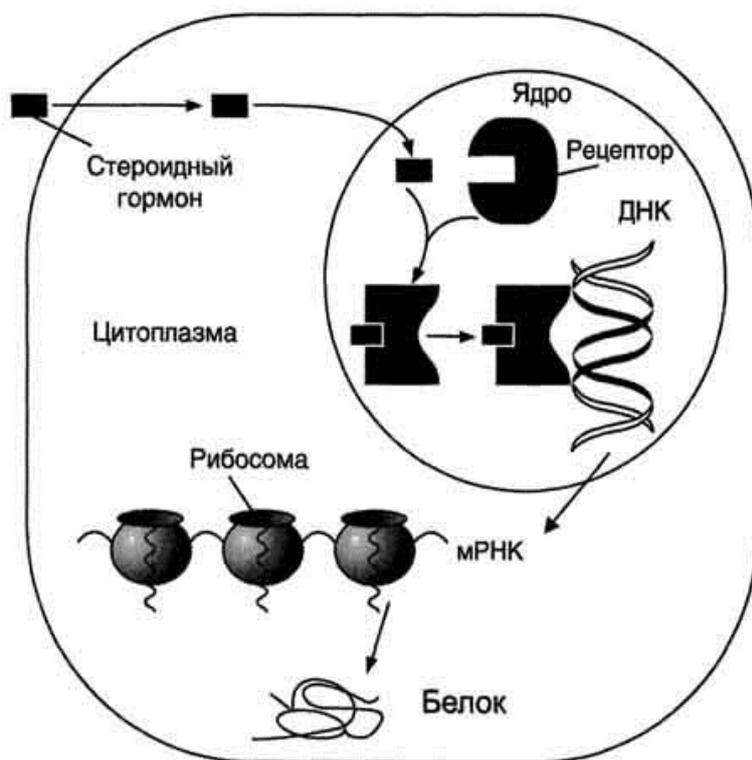


Рисунок 30 - Передача гормональных сигналов через внутриклеточные рецепторы (рецепторы стероидных гормонов могут находиться в цитоплазме и ядре) (Северин Е.С., 2003г.)

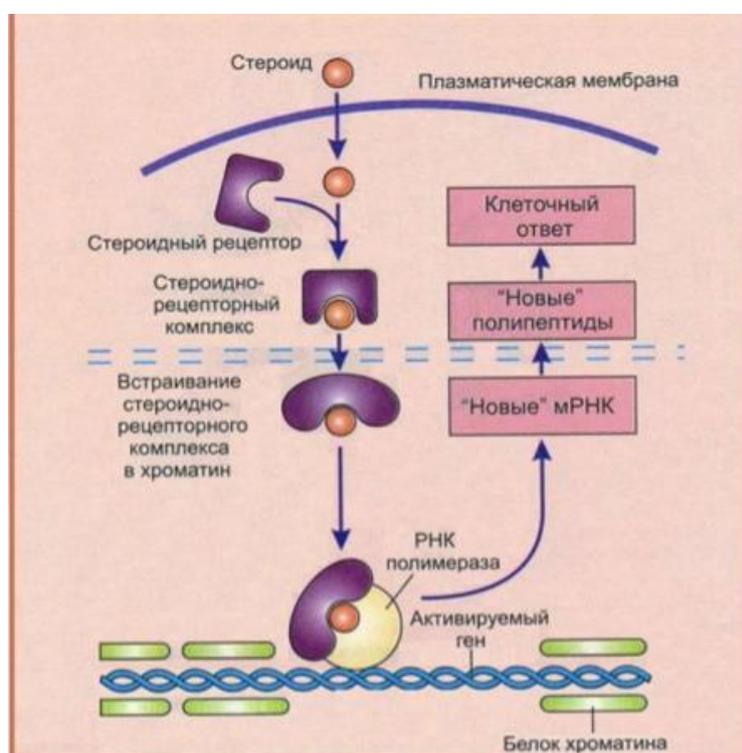


Рисунок 31 - Механизм действия гормонов (интернет ресурсы - <http://www.slideshare.net/111122221111/1-38452658>)

Клетки получают информацию с помощью сигнальных молекул или первичных посредников (мессенджеров), которые получили название лигандов. Каждый лиганд связывается со специфическим рецептором для последующей передачи информации в ядро или компартменты цитоплазмы с участием посредников, в результате чего клетка дает адекватный ответ и возникает конечный эффект. После получения сигнала в клетке изменяется активность определенных генов, скорость процессов синтеза и ферментативная активность.

Таким образом, клетка при получении сигналов включает компенсаторно-адаптационные механизмы для ее нормального функционирования в изменившихся условиях.

2.3 Механизмы нарушений клеточной сигнализации

К развитию патологических процессов в клетке могут привести нарушения на каждом из этапов передачи сигналов, это может быть дефекты в функционировании рецепторов, вторичных посредников, ферментативной активности, механизмов передачи сигнала, работы клеточных адаптационных программ.

Межклеточная сигнализация включает образование гормона или химического посредника одним типом клеток и действие его на удаленные ткани (**эндокринный путь**) или на соседние клетки в пределах той же ткани (**паракринный путь**), или же на клетку, выработавшую сигнальную молекулу (**аутокринный путь**). Для обеспечения специфичности паракринных и аутокринных сигналов, диффузия сигнальных молекул должна быть ограничена, что обеспечивается с помощью быстрого эндоцитоза сигнальных молекул соседними клетками, их разрушения внеклеточными ферментами или иммобилизации во внеклеточном матриксе.

Вторичные посредники усиливают сигналы и интегрируют ответы разных типов клеток. Принятый на поверхности клетки сигнал обычно усиливается и с передаётся через систему вторичных посредников к определенным молекулярным мишеням внутри клетки, которая обеспечивает этот контроль, с одной стороны, за счёт быстрого образования или активации вторичного посредника, и с другой стороны, за счёт его быстрого разрушения или инактивации.

Усиление сигнала обеспечивается за счёт участия вторичных посредников в каталитических каскадах. Так, взаимодействие лиганда с рецептором может активировать сотни молекул вторичных посредников, которые в свою очередь способны изменять активность тысяч эффекторов. Эта модуляция, обычно включает превращение неактивной молекулы в активную и наоборот. Примером такого каскада служит повышение внутриклеточной концентрации вторичного посредника, а именно *цАМФ*. Активация рецептора активирует G-белок, который в свою очередь активирует мембрано-ассоциированный

фермент *аденилатциклазу*, катализирующей синтез цАМФ из АТФ и в течение 5 с в 5 раз повышает концентрацию цАМФ в цитоплазме.

Для вторичных посредников характерны специфичность и многообразие.

Лиганды, активирующие одинаковые сигнальные пути, обычно вызывают одинаковый эффект. К примеру, адреналин, адренкортикотропный гормон (АКТГ), глюкагон и тиреотропный гормон обеспечивают расщепление триглицеридов через систему вторичного посредника, а именно цАМФ.

Однако, аналогичные сигнальные молекулы способны вызывать различный ответ в разных клетках, в зависимости от набора рецепторов и путей передачи сигнала, а также от специализированной функции клетки в организме. Например, ацетилхолин вызывает сокращение скелетных мышц, но препятствует сокращению сердечной мышцы, также способствует экзоцитозу секреторных гранул в клетках поджелудочной железы. Сигнальные молекулы достигают такого разнообразия эффектов, взаимодействуя с различными видами рецепторов.

Многообразие и специфичность системы вторичных посредников необходимы для обеспечения скоординированного ответа многоклеточного организма, в частности, на стрессовую ситуацию, так в состоянии стресса надпочечники выбрасывают адреналин и различные системы органов реагируют на адреналин по-разному, например, в печени активируется распад гликогена, сужаются кровеносные сосуды кожи, расширяются кровеносные сосуды скелетных мышц, возрастает частота и сила сердечных сокращений.

Интегральный ответ, заключается в подготовке организма к нападению, защите или бегству. Сложные процессы в клетке, такие как клеточная пролиферация и дифференцировка, стимулируются комбинацией сигналов, для интеграции этих сигналов существуют механизмы, реализующие взаимные влияния различных сигнальных каскадов.

Большинство путей передачи сигнала с поверхности клетки на эффекторы клеточной мембраны, цитоплазмы и ядра используют сложные каскады сигнальных белков, а также пути передачи сигнала, конечным пунктом которых служит ядро и которые могут привести к повреждению клетки путём изменения транскрипции генов - это **геномные эффекты**. Система передачи сигнала, которая расположена в клеточной мембране или цитоплазме, обеспечивает **внегеномные эффекты**, описанные в данном разделе. Адаптационные механизмы в клетке начинают функционировать при контакте рецепторов с определенными лигандами, то есть при поступлении сигналов.

В большинстве случаев клетки в организме управляются химическими регуляторными сигналами, принадлежащими к одной из пяти возможных категорий. Это могут быть: гормоны; медиаторы; антитела; субстраты; ионы.

При слабых сигналах, или при их полном отсутствии, что возникает при нарушении функции рецепторов, не происходит активации адаптационных процессов клетки, что приводит к развитию патологических процессов в клетке.

При избыточных сигналах, которые действуют длительное время и очень интенсивно, также могут быть нарушены процессы жизнедеятельности и развиваться патологические нарушения в клетках.

Известны случаи, когда клетка путает сигналы, принимая один сигнал за другой, приводящие к нарушениям регуляторных механизмов и развитию заболеваний связанных с неправильным использованием своей программы, например, при дефиците инсулина, не поступает сигнал, который не позволяет запускать синтез инсулинозависимых белков-транспортёров глюкозы, что приводит к нарушению утилизации этого субстрата инсулинозависимыми тканями.

Избыток глюкокортикоидов при **синдроме Иценко-Кушинга** вынуждает клетки включать неадекватные программы метаболической регуляции, что приводит к усилению липогенеза и глюконеогенеза, способности вызывать запрограммированную клеточную гибель или апоптоз.

Избыток ионов калия, создающийся при массивном цитолизе или длительной анурии нарушает программные автоматизмы, связанные с работой проводящей системы сердца и ведет к аритмии.

2.4 Нарушение рецепторной функции сигналов

При адекватной сигнализации клетка не всегда может правильно реагировать на поступающие сигналы и ответить на них должным образом, если существует дефицит рецепторов, соответствующих определенному биорегулятору. Также при избыточной активности или чувствительности тех или иных рецепторов могут развиваться патологические процессы. Например, при наследственном заболевании - *семейной гиперхолестеринемии*, которое выражается ранним атеросклеротическим поражением сосудов и приводит в большинстве случаев к раннему инфаркту миокарда, патогенез которого связан с дефектом белка-рецептора, отвечающего за распознавание клетками сосудов и некоторых других тканей белковых компонентов липопротеидов низкой и очень низкой плотности.

Также, при развитии **инсульта** гибель нейронов от гипоксии происходит от усилении генерации окиси азота - сильного сосудорасширяющего медиатора, регулятора адгезии нейтрофилов и активности циклооксигеназы.

Избыток окиси азота повреждает нейроны, активные метаболиты кислорода могут формировать вместе с NO пероксинитрит, который вызывает нарушения в ДНК, вызывает модификации белков в клетках, что, может запустить программу апоптоза.

Даже при поступлении адекватных сигналов и их правильном распознавании клеточными рецепторами, клетки не всегда могут включить адаптационные механизмы, в случае отсутствия информации с поверхности мембраны, где располагается большинство рецепторов, представляющих клеточную «клавиатуру» во внутрь клетки.

Генетические программы, которые определяют характер реагирования находятся в ядре (геном) и цитоплазме (плазмон).

Управляющие сигналы – например, гормоны и антитела – способны проникать внутрь клеток и даже внутрь их ядер, используя механизмы *рецепторного эндоцитоза*.

Известно, что механизмы, осуществляющие внутриклеточную передачу сигнала, представляют сложную взаимосвязанную систему, в которой большую роль играют G-белки, передающие множество химических сигналов и способные включать различные эффекторы, главные роли играют аденилатциклазы, ионные каналы и фосфолипазы.

При передаче сигнала внутрь клетк G-белки активирует аденилатциклазу, которая приводит к накоплению молекул ц-АМФ, активирующих ферменты протеинкиназы и открывающие ионные каналы.

G-белки также принимают участие в активации ферментов-инозитолфосфатаз, или «фосфолипаз С», приводящих к образованию инозитолтрифосфата (ИТФ), который вызывает выход кальция из внутриклеточных резервуаров в цитоплазму, влияющего на активность различных клеточных белков через кальмодулин и тропонин С, и диацилглицерина (ДАГ), действующего как вторичный посредник в активации протеинкиназ.

Пострецепторные нарушения вызывают развитие патологических симптомов, которые представляют основу клинической картины инфекционных заболеваний:

1. Например, водно-электролитные нарушения при *холере* обусловлены влиянием холерного экзотоксина, который поддерживает передачу сигнала в активном состоянии, в результате избыточной продукции клеткой ц-АМФ, начинается экскреция воды и электролитов в просвет кишечника. *Холерный токсин* – секретируется холерным вибрионом, его действием и объясняется истощающие симптомы заболевания.

2. При *коклюше* экзотоксины бактерии бордетеллы приводят к увеличению содержания ц-АМФ в клетках, что вызывает ряд симптомов, включая снижение бактерицидной активности лейкоцитов и кашель.

3. Токсины бактерии *сибирской язвы* *V. anthracis* вызывают отек в кожных очагах поражения и диарею при кишечном пути заражения.

4. Активация G-белков, для которых ц-АМФ может быть митогенным стимулом, повышает риск опухолевого роста.

Таким образом, при неадекватном использовании клеткой своих адаптационных возможностей при наследственных и приобретенных болезнях может произойти нарушение и сбоям в работе пострецепторных информационных механизмов.

3 Патология репродукции клеток

3.1 Проблемы клеточной пролиферации

У взрослого организма запрограммированная клеточная гибель, уравновешивает митотическое деление и обеспечивает постоянное обновление тканей путём поддержания сбалансированной численности клеток. Механизм регуляции митотической активности.

Поддержание числа клеток на определенном, постоянном уровне обеспечивает в целом гомеостаз. Например, число эритроцитов и лейкоцитов в здоровом организме относительно стабильно, несмотря на то, что эти клетки отмирают, происходит их постоянное пополнение.

Следовательно, скорость образования новых клеток должна регулироваться, с тем чтобы она соответствовала скорости их гибели. Для поддержания гомеостаза необходимо, чтобы число различных специализированных клеток в организме и те функции, которые они должны выполнять, находились под контролем различных регуляторных механизмов, поддерживающих всю систему в стабильном состоянии.

Во многих случаях клеткам подается сигнал о том, что они должны повысить свою функциональную активность, а для этого может понадобиться увеличение числа клеток. Например, если содержание Са в крови падает, то клетки паращитовидной железы усиливают секрецию гормона, уровень кальция достигает нормы.

Но если в рационе животного недостает кальция, то дополнительное продуцирование гормона не повысит содержание этого элемента в крови. В этом случае клетки щитовидной железы начинают усиленно делиться, с тем чтобы увеличение их числа привело к дальнейшему повышению синтеза гормона.

Таким образом, понижение той или иной функции может привести к увеличению численности популяции клеток, обеспечивающих эти функции. У людей, попадающих в высокогорную местность, резко увеличивается количество эритроцитов для того, чтобы обеспечить организм необходимым количеством кислорода.

На снижение кислорода реагируют клетки почек и усиливают секрецию эритропоэтина, стимулирующего кроветворение. После образования достаточного количества дополнительных эритроцитов гипоксия исчезает, и клетки, вырабатывающие указанный гормон, снижают его секрецию до обычного уровня.

Полностью дифференцированные клетки не могут делиться, но тем не менее количество их может увеличиваться за счет стволовых клеток, от которых они произошли. Нервные клетки ни при каких обстоятельствах не могут делиться, но могут повысить свою функцию за счёт увеличения своих отростков и умножения соединений между ними.

Следует отметить, что у взрослых особей соотношение общих размеров различных органов остаётся более или менее постоянным. При искусственном нарушении существующего соотношения размеров органа оно стремится к норме (удаление одной почки приводит к увеличению другой).

Одна из концепций, объясняющая это явление, состоит в том, что пролиферация клеток регулируется особыми веществами - кейлонами. Предполагается, что они обладают специфичностью в отношении клеток разных типов, тканей органов. Считается, что понижение количества кейлонов стимулирует пролиферацию клеток, например, при регенерации.

В настоящее время эта проблема тщательно изучается разными специалистами. Получены данные, что кейлоны – это гликопротеиды с молекулярной массой 30000 – 5000.

Как известно, ткани с высокой скоростью обновления клеток более чувствительны к воздействию различных мутагенов, чем ткани, в которых клетки обновляются медленно.

Однако, например, лучевое повреждение может проявляться не сразу и не обязательно ослабевает с глубиной, иногда даже гораздо сильнее повреждаются глуболежащие ткани, чем поверхностные.

При облучении клеток рентгеновскими или гамма-лучами в их жизненном цикле происходят грубые нарушения: митотические хромосомы изменяют форму, возникают их разрывы с последующим неправильным соединением фрагментов, иногда отдельные части хромосом исчезают вовсе.

Могут возникнуть аномалии веретена (образоваться не два полюса в клетке, а три), что приведет к неравномерному расхождению хроматид. Иногда повреждение клетки (большие дозы облучения) бывает столь значительным, что все попытки клетки приступить к митозу оказываются безуспешными и деление прекращается. Подобным действием облучения и объясняется отчасти его применение в терапии опухолей.

Цель облучения не в том, чтобы убить опухолевые клетки в интерфазе, а в том, чтобы они утратили способность к митозу, что приведет к замедлению или прекращению роста опухоли.

Излучение в дозах не летальных для клетки может вызвать мутации, приводящие к усиленной пролиферации измененных клеток и дать начало злокачественному росту, как это часто случалось с теми, кто работал с рентгеновскими лучами, не зная об их опасности.

На пролиферацию клеток влияют многие химические вещества, в том числе лекарственные препараты. Например, алкалоид, колхицин (его содержат клубнелуковицы безвременника) был первым лекарственным препаратом, который снимал боль в суставах при подагре. Выяснилось, что он обладает и другим действием – останавливать деление путём связывания с белками тубулинами из которых формируются микротрубочки.

Таким образом, колхицин, как и многие другие препараты, блокирует образование веретена деления. На этом основании такие алкалоиды как винбластин и винкристин применяются для лечения некоторых видов злокачественных новообразований, входя в арсенал современных химиотерапевтических противораковых средств.

Большое значение для медицины имеет способность дифференцированных (причем половых) клеток сохранять свои потенции к пролиферации, что приводит иногда к развитию в яичниках опухолей, на разрезе которых видны клеточные пласты, ткани, органы, представляющие собой «мешанину».

Выявляются клочки кожи, волосяных фолликулов, волос, уродливых зубов, кусочков костей, хряща, нервной ткани, фрагментов глаза и т.д., что требует срочного хирургического вмешательства.

3.2 Аномалии митотического цикла

При патологических процессах может произойти нарушение митотического деления и процесс восстановления клеточного состава с учетом замены старых и погибших клеток, а также усиление пролиферации клеток при воспалительных процессах, гормональных воздействиях, опухолях и др.

При воздействии негативных агентов (ионизирующей радиации, различных антиметаболитов), которые используются для противоопухолевой химиотерапии, действующих в фазе S, угнетается синтез ДНК, ряд других агрессивных агентов действуют на стадии митоза и препятствуют образованию митотического веретена деления, такие изменения могут вызвать блокаду митоза в метафазу и последующую смерть клетки (митонекроз), который встречается в опухолевой ткани, при воспалительных процессах с некрозом.

При действии вышеперечисленных факторов на клетку можно выявить различные морфологические аномалии митозов, приводящие к тяжелыми метаболическими нарушениями клеток, проявляющихся трех-, четырех- и мультиполярными митозами (Рисунок 32).

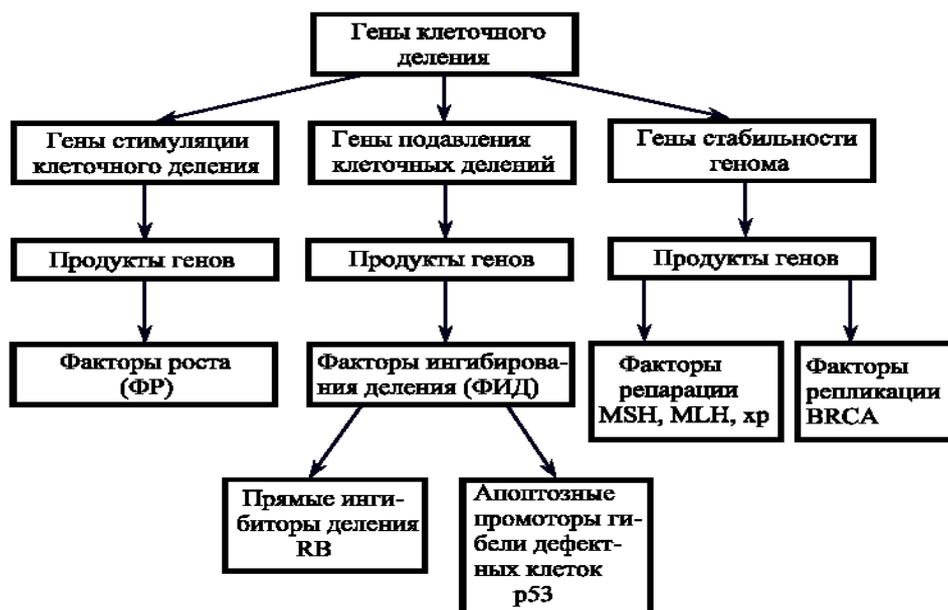


Рисунок 32 – Система генетического контроля клеточных делений (Михеев В.С., 2008г.)

Патология митоза - одно из важных проявлений морфологической анаплазии опухолевой клетки. Встречаются следующие наиболее частые формы патологии митоза. *Патологические митозы по И. А. Алову:*

1. Фрагментация хромосом, иногда на очень мелкие глыбки (пудверизация), причем большинство фрагментов или глыбок лишено кинетохора и поэтому остаются неподвижными. Вследствие фрагментации или отставания отдельных хромосом происходит *образование микроядер*, вокруг которых формируется ядерная мембрана, параллельно с образованием мембран вокруг основных дочерних ядер. Образованные микроядра могут либо сохраняться в клетке в течение всего клеточного цикла до очередного деления, либо подвергаются пикнозу, разрушаются и выводятся из клетки.

В опухолевых клетках при воздействии токсинов различных митотических ядов наблюдается *набухание и слипание хромосом*, вследствие чего хромосомы теряют свои нормальные очертания, слипаются и превращаются в комковатые массы, при этом расхождения хромосом не происходит и часто клетки в таком состоянии погибают.

2. Появление мостов при воссоединении двух фрагментов, сохранивших кинетофор. Формируется дицентрическая хромосома. Испытывая воздействия обоих митотических центров, хромосома растягивается между ними и образует мост, влияющий на течение заключительных стадий митоза, задерживая цитотомию.

3. Отставание хромосом в метакинезе и при расхождении к полюсам, возникает при повреждении кинетохора.

4. Митоз колхицинового типа (К-митоз): метафазная пластинка состоит из склеенных хромосом, образующих «комки». Кроме того, наблюдается отставание хромосом.

5. Беспорядочное рассеивание гиперспирализованных хромосом в метафазе (один из видов К-митоза).

6. Многополюсный митоз.

7. Трехгрупповая метафаза (Рисунки 33-39).

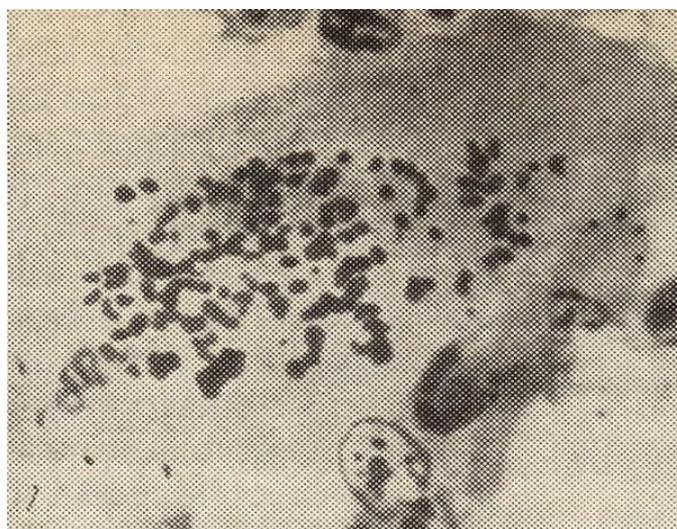


Рисунок 33– Пудверизация хромосом (Струков А.И., 1995 г.)



Рисунок 34 - Хроматидные мосты (Струков А.И., 1995 г.)



Рисунок 35 – Отставание хромосом в метакинезе
(Струков А.И., 1995 г.)



Рисунок 36 - Отставание хромосом при расхождении к полюсам
(Струков А.И., 1995 г.)

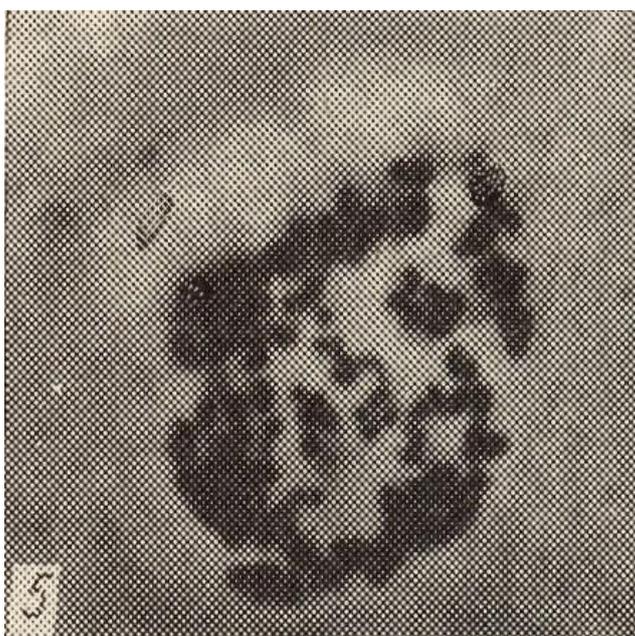


Рисунок 37 - Рассеивание гиперплазированных хромосом
(Струков А.И., 1995 г.)

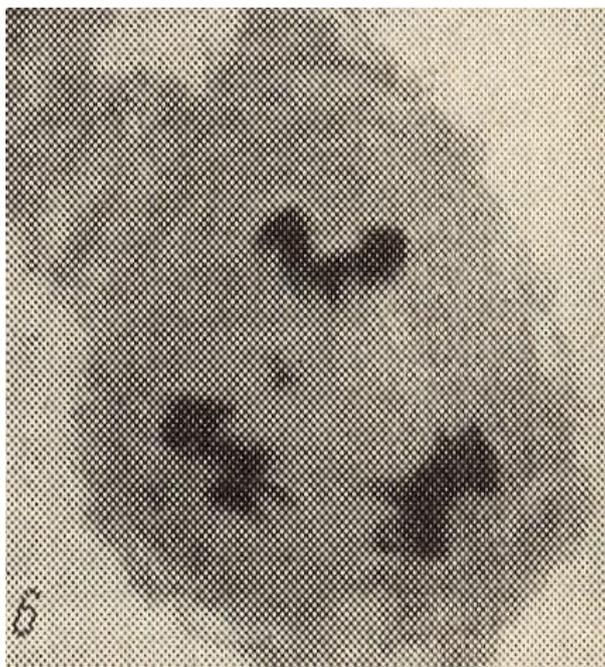


Рисунок 38 - Многополюсный митоз с фрагментом хромосомы
(Струков А.И., 1995 г.)



Рисунок 39 - Трехгрупповая метафаза
(Струков А.И., 1995 г.)

Патология митоза, связанная с нарушением цитотомии. Различают две группы патологии митоза, которые связаны с нарушением цитотомии:

1. Ранняя цитотомия которая берет начало в анафазе;
2. Запаздывающая или полное отсутствие цитотомии;

В результате чего формируются двудерные клетки, либо образуется одно полиплоидное ядро.

3.3 Апоптоз и патологический процесс

Патологии митоза часто сопровождаются гибелью клеток в форме апоптоза, в связи с чем появился термин митотическая катастрофа, клетка останавливается в одной из фаз митоза, чаще в К-митозе (колхицино-подобном митозе), при этом выявляются патологии, связанные с организацией веретена деления и формированием метафазной пластинки, с последующей активацией каспаз и деструктивных процессов в клетке.

В активации программы апоптоза доминирующим является митохондриальный путь, приводящий к гибели клетки в митозе, при этом образуются апоптотические тельца, уничтожаемые путем фагоцитоза.

Причиной митотической катастрофы могут быть нарушение регуляторных процессов контроля в клетках, в которых появились повреждения ДНК или нарушение формирования митотического веретена. В блокировании клеточного цикла и в индукции апоптоза большую роль играет экспрессия гена p53.

В стареющих клетках организма усиливается возможность к развитию апоптоза для таких типов клеток: гепатоцитов, кардиомиоцитов, макрофагов, мегакариоцитов, нейронов, ооцитов, Т-лимфоцитов, хондроцитов.

Апоптоз играет большую роль в формообразовательных процессах, в дифференциации тканей и отдельных частей органов, например, у животных в морфогенезе отдельных органов или их частей наиболее отчетливо прослеживается роль апоптоза в процессе *эмбриогенеза* (редукция хвоста у головастика амфибий, атрофия хорды), что объясняется апоптозом клеточных популяций.

В процессе апоптоза происходят и морфологические изменения, сопровождающиеся разрушением внутриклеточных структур, с последующим уплотнением цитоплазмы, разделением ядра на фрагменты, образованием апоптических телец. Одновременно происходит выход на поверхность сигнальных и адгезивных молекул (фосфатидилсерин, лизофосфолипиды), которые узнаются соседними клетками или макрофагами и способствуют фагоцитозу.

При действии на организм различных патогенных факторов формируется ответная реакция на данное воздействие, в которой большая роль отводится апоптозу, например, в развитии некоторых патологических состояний, таких как, злокачественные новообразования, синдром приобретенного иммунодефицита, нейродегенеративные и аутоиммунные заболевания, инфекционные процессы и пр.

Апоптоз отличается от другой формы гибели клеток - некроза, который развивается при действии внешних повреждающих факторов и неадекватных условий среды (гипертермия, механические воздействия, влияние факторов, повреждающих мембрану). Механизм развития некроза начинается набуханием клетки, разрывом наружной мембраны и выходом содержимого клетки во внешнюю среду.

Комплекс морфологических изменений в ядре при некрозе в литературе описывается как пикноз, лизис и рексис. Для кариопикноза характерно уплотнение и сморщивание ядер, конденсация хроматина, однако, для апоптоза характерна конденсация хроматина в виде крупных агрегатов, которые как правило, располагаются вдоль ядерной мембраны.

Изменения в клетке при некрозе сопровождаются деструктивными изменениями в цитоплазме, которые выявляются при электронно-микроскопическом исследовании практически во всех структурах цитоплазмы клетки, характерны отеки, набухание и просветление матрикса, нарушение структуры митохондрий.

Выраженные деструктивные изменения происходят и в плазматической мембране, что является важным дифференциально-диагностическим признаком, который позволяет отличать некроз от апоптоза.

В конечном итоге, при завершении некроза происходят разрушение клеточных мембран, ядра и органелл цитоплазмы, выброс или выход содержимого цитоплазмы в окружающее пространство. Некроз клеток всегда сопровождается воспалительной реакцией, что не характерно для апоптоза.

При изучении патогенеза некроза из многообразия патогенетических путей можно выделить наиболее значимые:

1. связывание клеточных белков с убиквитином;
2. недостаточность АТФ;
3. генерация активных форм кислорода;
4. нарушение кальциевого гомеостаза;
5. потеря клеточными мембранами избирательной проницаемости.

Некротизированные клетки фрагментируются и удаляются с помощью фагоцитов (макрофагов и лейкоцитов) и протеолизосомальными ферментами лейкоцитов, происходит рубцевание, то есть замещение некротических клеток соединительной тканью.

Возможен процесс инкапсуляции, то есть отграничение участка с некрозом соединительно-тканной капсулой, либо кальцификации - пропитывание участка с некрозом солями кальция (дистрофическое обызвествление).

В некоторых случаях наблюдается гнойное расплавление некротических масс с возможным развитием сепсиса.

Некроз приводит к выключению функций определенных зон, поэтому некроз жизненно важных органов, может привести к смерти. Примерами могут быть инфаркт миокарда, ишемические некрозы головного мозга, некрозы коркового вещества почек, прогрессирующий некроз печени, острый панкреатит, осложнившийся панкреонекрозом. Часто некроз клеток и тканей является причиной осложнений таких заболеваний как параличи при геморрагическом и ишемическом инсультах, при инфекции, массивных пролежнях, интоксикации в связи с воздействием на организм продуктов тканевого распада, например, при гангрене конечности и т.д.

Патологическая активность, в областях некроза в отделах мозга или миокарде, может привести к эпилептическим припадкам или сердечной

аритмии. Нарушение перистальтики в некротизированной кишке может вызвать кишечную непроходимость. Нередко наблюдаются кровоизлияния в некротизированную ткань, например, кровохаркание при некрозе лёгкого.

В отличие от некроза, апоптоз проходит по определенному биохимическому и морфологическому механизму, не зависимо от причины, вызывающей этот процесс.

В биологических мембранах появляются пузырьки, уплотняется цитоплазма и хроматин, сморщиваются органеллы, происходит фрагментация ДНК и образуются фрагменты клетки или апоптозные тельца, которые поглощаются соседними клетками или макрофагами без воспаления и повреждения ткани.

С помощью сложных механизмов регуляции апоптоза устраняются клетки в раннем онтогенезе, происходит инволюция органов, процессы атрофии и клеточная гибель после воздействия различных факторов.

После того, как клетка получит сигнал к апоптозу первичные повреждения развиваются на мембране, при участии рецепторов гибели клетки, затем происходит активация каскада внутриклеточных протеаз (каспаз), приводящая к уничтожению клетки.

Рецепторы гибели расположены на поверхности клетки и являются сенсорами внеклеточных сигналов к запуску апоптоза. Эти сигналы формируются при контакте рецептора со специфическими лигандами, которые могут быть сцеплены с мембраной.

Важную роль в апоптозе играют митохондрии, располагающиеся на вершине каспазного каскада. Их участие заключается в высвобождении специфических белков, таких как цитохром С, которые активируют прокаспазу-9, связывая ее с АРАФ-1 и запускают каспазный каскад.

Важное значение в регуляции апоптоза имеют гены подавляющие опухоли, среди них важным является ген р53, индуцирующий клеточную гибель в ответ на повреждение наследственного аппарата (ДНК), мутации этого гена встречаются при злокачественных новообразованиях у людей, установлено, что активация гена р53 приводит или к апоптозу, или к остановке клеточного цикла (Рисунки 40, 41).

В современных условиях большое внимание уделяют изучению механизмов апоптоза с точки зрения его влияния на развитие различных патологических процессов, например, снижение интенсивности клеточной гибели приводит к развитию злокачественных новообразований (лимфоме Беркитта и некоторых формах фолликулярных лимфом).

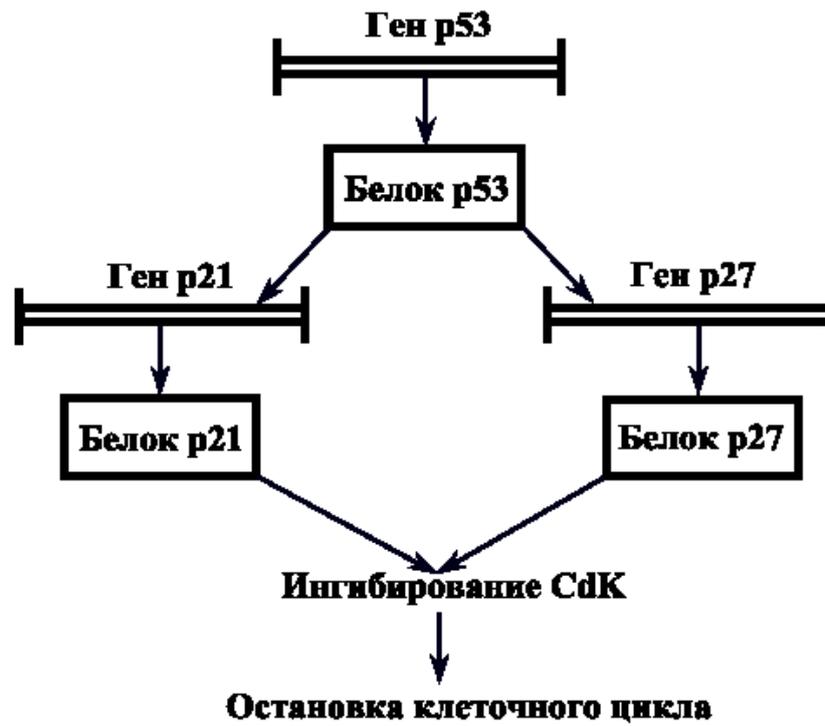


Рисунок 40 – Генетический контроль остановки клеточного деления (Михеев В.С., 2008 г.)

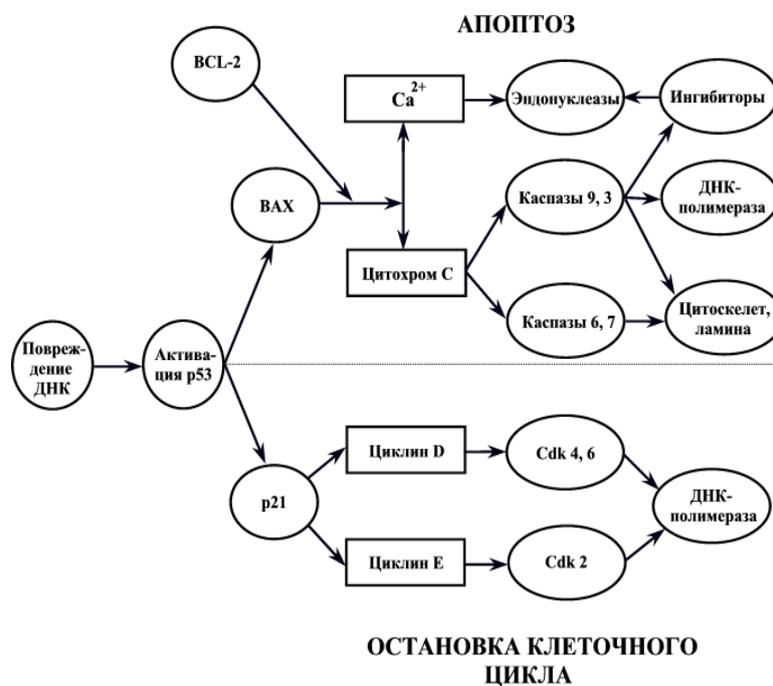


Рисунок 41 – Схема апоптозного каскада (Михеев В.С., 2008 г.)

Выявлен ряд патологических состояний, которые вызваны активацией апоптоза, например, предрасположенность к апоптозу лимфоцитов выявлена у больных с системной красной волчанкой. В результате быстрой гибели нейронов возникают болезни Альцгеймера и Паркинсона. При инфаркте миокарда или инсульте происходит лизис клеток вокруг очага ишемии, что приводит к расширению зоны поражения.

Апоптоз играет роль в развитии нефропатий, прогрессирование которых характеризуется клеточной пролиферацией, накоплением внеклеточного матрикса и последующим сморщиванием ткани.

Необходимо отметить особую роль оксида азота в регуляции процессов клеточной гибели, который обладает противовоспалительным эффектом и воздействует на иммунную систему. Результаты исследований ряда авторов свидетельствуют об участии оксида азота в апоптозе (запрограммированной клеточной гибели). Также установлено, что NO усиливает потенциал мембраны митохондрий, изменяет структуру цитохрома C, в результате чего происходит высвобождение его из митохондрий и активация каспазы-3.

Роль апоптоза заключается в регуляции физиологических процессов, связанных с поддержанием клеточного гомеостаза. Выявлена его важная роль при реализации стрессорной реакции, что связано с повышенным выделением стероидных гормонов надпочечниками. При недостаточности проявления апоптоза развиваются процессы патоморфоза, наблюдается элиминация клеток с генетическими нарушениями, с разными дефектами развития и злокачественными опухолями, особенно имеющие гематогенное происхождение. В этом случае ключевым событием, способствующим развитию патологии, чаще всего служат соматические мутации, затрагивающие ген p53.

Наиболее выраженные формы нарушений, при которых в процесс апоптоза вовлекаются клетки различных типов, наблюдаются при беременности, которые часто несовместимы с нормальным развитием плода и приводят к внутриутробной гибели, например, некоторые врожденные поражения сердца. Эти формы нарушений выявляются при синдроме Дауна и приводят к формированию миопатии.

Наиболее частыми вариантами патологии, развивающимися в организме в связи с усилением апоптоза, являются аплазии и дегенеративные процессы.

Другим примером болезней, связанных с усилением апоптоза, являются заболевания нервной системы, которые вызваны атрофией определенных ее участков. К таким заболеваниям относятся болезнь Альцгеймера, спинальная мышечная атрофия и другие заболевания нервной системы.

Существует ряд болезней, в поражении которых важная роль принадлежит апоптозу, например, могут инфаркт миокарда: который протекает с гибелью миоцитов.

Следует отметить, процессы усиления апоптоза, вызванные действием внешних апоптогенных факторов, среди которых первое место занимает ионизирующая радиация, индуцирующая апоптоз лимфоидных клеток, ее действие проявляется в иммунной недостаточности.

Источником апоптогенных факторов является также внешняя среда, так в регионах экологического неблагополучия могут появляться источники факторов апоптоза, вызывающие большое число патологических процессов, причиной развития которых являются нарушения регуляции апоптоза.

Выделяются два направления для изучения апоптоза, это с одной стороны, исследование сигнальных и рецепторных путей, регулирующих апоптоз, с другой стороны, необходимость проведения поиска веществ, которые способны воздействовать на процесс апоптоза, либо подавляя, либо активируя его.

3.4 Причины и механизмы развития апоптоза

К молекулярно-биохимическим признакам апоптоза относится его энергозависимость, так как апоптоз требует обязательного участия АТФ, при изменении его уровня можно определить направление клеточной гибели.

К причинам развития апоптоза относятся различные неспецифические факторы, например, температура, экотоксиканты, оксиданты, свободные радикалы, электромагнитное излучение, бактериальные токсины и др. При воздействии данных факторов происходит индукция апоптоза, но при усилении или интенсификации действия соответствующего фактора или агента может развиться некроз клетки.

Среди физиологических факторов большую роль играют гормоны, так как они могут выступать как индукторы, так и ингибиторы гибели клетки, в зависимости от стадии ее дифференцировки (например, половые гормоны).

Другим важным физиологическим регулятором апоптоза являются цитокины (большая группа белков, которые регулируют процессы пролиферации и дифференцировки клеток при связывании со специфическими рецепторами на клетках-мишенях), эффект их действия на клетки неоднозначен: они выступают в роли индуктора для одних клеток и как ингибитор апоптоза для других. Все это зависит от типа клетки, стадии ее дифференцировки и функционального состояния.

Усиление или ослабление апоптоза играют важную роль в развитии патологических процессов. Активация апоптоза в процессе развития плода приводит к так называемому патологическому эффекту «минус ткань», который заканчивается внутриутробной гибелью плода. И активация и ослабление апоптоза играют важную роль в развитии ряда патологических процессов, например усиленный апоптоз кардиомиоцитов при синдроме Дауна может привести к развитию кардиомиопатии.

Некоторые патологии системы крови можно объяснить повышенным уровнем апоптоза кроветворных клеток-предшественниц, в результате чего проявляются комбинированные формы иммунодефицита и апластические анемии. Активация апоптоза играет большую роль в развитии нейродегенеративных процессов, например, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона и др.

Установлено, что усиление апоптоза клеток Т-хелперов при СПИДе является основным патогенетическим механизмом развития иммунодефицита. С другой стороны, усиление апоптоза клеток, инфицированных вирусами или микробными токсинами, играет положительную роль, вызывая торможение процессов размножения вирусных и микробных инфекций.

Ослабление апоптоза так же способствует развитию патологических процессов, например, при онкологических заболеваниях. При развитии опухоли происходит два процесса: активация апоптоза и пролиферативное размножение клеток опухоли. При высокой степени апоптоза малегнизированных клеток клона не образуется и не происходит развитие опухоли. Если скорость размножения опухолевых клеток обгоняют апоптоз, то в результате развивается злокачественное новообразование.

Повышение количества продуктов угнетающих апоптоз в клетках иммунной системы и образование внеклеточных факторов, блокирующих апоптоз может привести к развитию аутоиммунных процессов и системной аутоиммунной патологии (например, системной красной волчанки).

Механизм апоптоза, индуцированного внутриклеточными факторами. Апоптоз индуцируется в клетках, которые имеют нерепарированные повреждения ДНК, поэтому уничтожение клетки не дает возможности для появления клеток-мутантов, вызывающих развитие злокачественной опухоли.

Нерепарированные повреждения ДНК приводят к активации двух генов: p21 и p53. Выработка соответствующего белка геном p21 вызывает блокаду митотического цикла (клетка-мутант не должна производить себе подобные клетки-уроды). Клеточный или митотический цикл начинается с фазы G1 – подготовки к синтезу ДНК, за которой следуют фазы S – фаза синтеза ДНК и фаза G2 – постсинтетическая, после чего наступает митоз клетки.

Очень важными являются в жизни клетки являются контрольные пункты, вошедшие в митотический цикл. Их называют «контрольные пункты» или (checkpoints), они располагаются на границе фазы G1/S и на границе фазы G2/митоз. На уровне контрольных пунктов проверяется целостность ДНК, отсутствие в ней мутаций. У клеток, имеющих поврежденную ДНК, клеточный цикл блокируется, и клетка запускает стадии апоптоза.

При активации гена p53 и синтеза одноименного белка запускается механизм апоптоза. Роль белка p53 с одной стороны блокирует антиапоптозные механизмы белка Bcl-2, а с другой – обеспечивает раскрытие каналов в митохондриях и выходу в цитоплазму веществ активаторов внутриклеточных протеаз или «казнящих каспаз».

Активные каспазы вызывают протеолиз ядерных белков, активируют эндонуклеазы и обеспечивают протеолиз цитоплазматических белковых молекул. В результате происходит фрагментация ядра клетки, фрагментация цитоплазмы, образование апоптозных телец и завершение апоптоза (Рисунки 42, 43).



Рисунок 42 - Механизм апоптоза и блокада митоза клетки (интернет ресурсы - <http://do.gendocs.ru/docs/index-219996.html>)

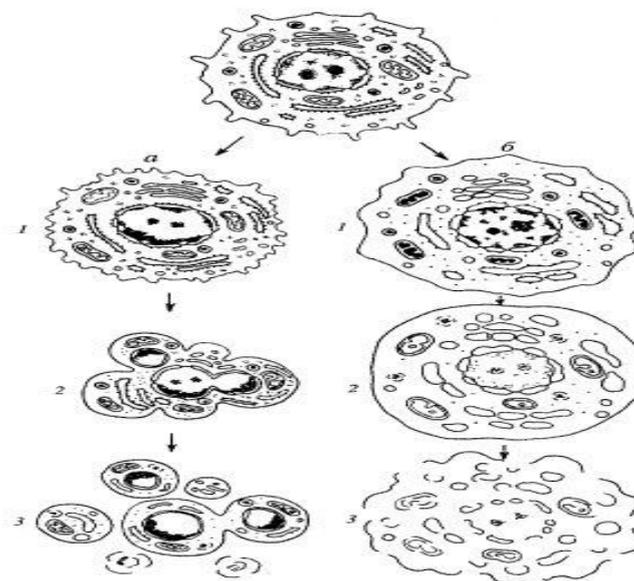


Рисунок 43 – Два пути клеточной гибели (Величко В.В. 2008 г.)
 а – апоптоз (программируемая клеточная смерть): 1 – сжатие клетки и цитоплазмы, конденсация хроматина, 2 – фрагментация ядра, 3 – фрагментация клетки с образованием апоптических телец; б – некроз: 1 – набухание клетки, вакуолярных компонентов, конденсация хроматина (кариорексис), 2 – набухание мембранных органоидов, лизис хроматина ядра (кариолизис), 3 – разрыв мембранных компонентов клетки – лизис клетки.

Каспазы. Каспазный каскад. Каспазы находятся в цитоплазме клеток в неактивном состоянии (в виде прокаспаз). Каспазы обладают способностью активировать друг друга, с образованием разветвленного протеолитического каскада (Рисунок 44).

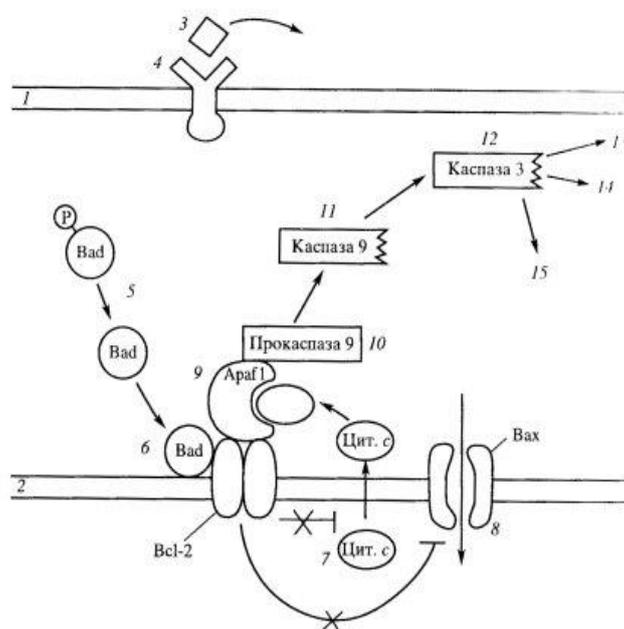


Рисунок 44 - Одна из моделей развития апоптоза (Величко В.В. 2008 г.)

1 - плазматическая мембрана; 2 - внешняя мембрана митохондрии; 3 - трофический фактор; 4 - рецептор трофического фактора; 5 - дефосфорилирование проапоптозного белка Bad; 6 - белок Bad инактивирует антиапоптозный белок Bcl-2; 7 - выход цитохрома с в цитозоль; 8- активация апоптозного белка Вах, открывание ионных каналов; 9- цитохром с активирует адаптерный белок Араф-1; 10 - активация прокаспазы 9; 11 - активация каспазы 9; 12 - активация каспазы 3; 13 - конденсация и деградация хроматина; 14 - деградация ядерной ламины; 15 -деградация цитоскелета.

В активации прокаспаз принимают участие и ряд других веществ, например, цитохром С, который содержится в митохондриях. В итоге каспазы способствуют процессу фрагментации ядра и цитоплазмы клетки, то есть выполняют роль исполнителей гибели клетки, за что их называют «казнящими каспазами».

Можно выделить два основных механизма активации прокаспаз. Первый из проявляет себя в случае уже нерепарированного повреждения ДНК и активация митохондриального механизма апоптоза приводит к выходу из митохондрий цитохрома С и протеазы АИФ (Apoptosis Inducing Factor), которые участвуют в активации прокаспазы 9, обеспечивающая активацию «казнящей каспазы» 3, а также каспаз 6 и 7. Таким образом, активные «казнящие каспазы» завершают процесс апоптоза.

Второй путь активации каспазного каскада связан с развитием «инструктивного механизма апоптоза» (Рисунок 45), при котором активация

«рецепторов смерти», с помощью адаптерных белков, приводит к активации прокаспазы 8, которая, активирует «казнящие каспазы» 3, 6 и 7.



Рисунок 45 - Каспазный каскад

(интернет ресурсы - <http://lib.znate.ru/docs/index-59435.html?page=2>)

Каскадный механизм апоптоза. В современных условиях важная роль в запуске процесса апоптоза принадлежит протеазам, это ферменты каспазы, катализирующие необратимые реакции протеолиза.

Выявлено 10 каспаз, участвующие в образовании ферментативного каскада. Среди каспаз различают эффекторы, это ферменты, которые гидролизуют структурные белки клетки и индукторы – каспазы, принимающие апоптотический сигнал и передающие его на эффекторные каспазы.

Среди молекулярных мишеней каспаз – эффекторов известны многие белки, деградация которых вызывает развитие необратимых процессов, характерных для апоптоза. Регуляция активности каспаз в интактной клетке происходит несколькими путями (Рисунок 46).

Разрушение ДНК на фрагменты - ключевое событие апоптоза, пусковым механизмом которого является расщепление ферментами каспазами белка - топоизомеразы, который необходим для поддержания структурно-функциональной способности ДНК.

Субстратом протеаз в развитии апоптоза является белок гистон H1, защищающий молекулу ДНК от действия ферментов – эндонуклеаз, так как, осуществление этапов деградации ДНК связано с активностью различных эндонуклеаз.

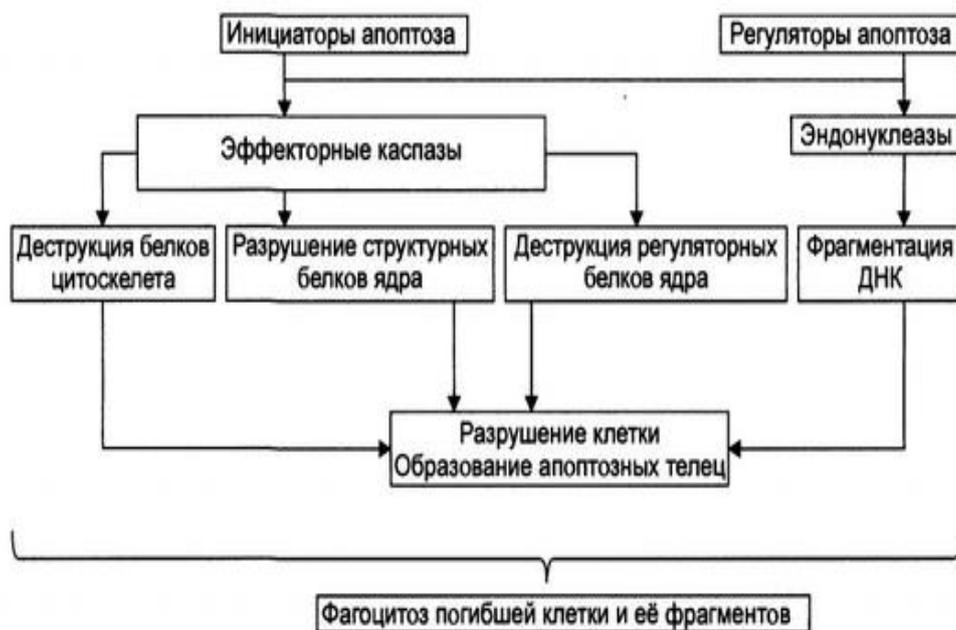


Рисунок 46 - Пути регуляции активности каспаз

Роль белков p53 и семейства Bcl-2 в регуляции апоптоза клетки. В индукции апоптоза важная роль принадлежит белку p53, локализованному в ядре клетки, который является одним из важных регуляторов апоптоза.

На ранних стадиях повреждений молекулы ДНК происходит повышение экспрессии белка p53, вызывая блок клеточного цикла в фазе G1 и G2 до репликации ДНК и начала митоза, соответственно давая возможность репарировать повреждения на молекуле ДНК, для предотвращения появления мутаций и соответственно мутантных клеток. В случае снижения активности репаративных систем и повреждения ДНК не восстанавливаются, то в таких клетках начинается индукция апоптоза, что является защитным механизмом от клеток с повреждениями молекулы ДНК.

Процесс регулирования клеточной гибели можно разделить на несколько стадий: инициации апоптоза, проведение сигнала, активация каспаз и эндонуклеаз и деградация ДНК, после чего наступает гибель клетки.

Если начальные стадии различаются в зависимости от типа клеток и от апоптоз-индуцирующего сигнала, то стадии деградации или разрушения ДНК – универсальные для большинства клеток. Последняя стадия является переходом к необратимой - завершающей стадии апоптоза, которая контролируется белками семейства Bcl-2.

Митохондриальные механизмы апоптоза. Существующие механизмы участия митохондрий в реализации программы клеточной гибели могут приводить к индукции апоптоза или могут завершаться некробиозом и некрозом клетки (Рисунок 47). Факторы индукции апоптоза, важным из которых является белок p53 блокируют действие антиапоптозного белка Bcl-2, который встроен в мембрану митохондрий и способствуют открытию каналов митохондриальной мембраны, вызывая ее частичное повреждение, что,

приводит к выходу в цитоплазму цитохрома С и фактора индукции апоптоза (AIF), которые являются активаторами прокаспаз, отвечающих за завершающие механизмы апоптоза с участием каскад - «казнящих каспаз».



Рисунок 47 - Роль митохондриальных механизмов апоптоза и некроза клетки (интернет ресурсы - <http://lib.znate.ru/docs/index-59435.html?page=2>)

Эмбриональный апоптоз. В процессе развития эмбриона апоптоз может играть и положительную и отрицательную роль (Рисунки 48, 49). Пусковыми механизмами апоптоза эмбриональных клеток может быть дефицит апоптозподавляющих факторов в межклеточной среде, недостаток факторов роста, неспособность эмбриональных клеток к адгезии.



Рисунок 48 - Нарушение апоптоза в эмбриогенезе (интернет ресурсы – <http://dic.academic.ru/dic.nsf/ruwiki/14680>)



Рисунок 49 - Сросшиеся указательный и средний пальцы как результат незавершившегося или нарушенного апоптоза в эмбриогенезе (интернет ресурсы – <http://dic.academic.ru/dic.nsf/ruwiki/14680>)

Апоптоз нервных клеток может индуцироваться в случае, если не образуются синаптические связи с соседними клетками. Этот механизм действует не только в эмбриональной нервной системе, но и во взрослом организме (Рисунок 50).



Рисунок 50 - Механизм развития эмбрионального апоптоза

Апоптоз стареющих клеток. Известно, что соматические клетки способны к ограниченному числу делений, то есть подчиняются «лимиту Хейфлика. Такое ограниченное количество делений дифференцированных

клеток объясняется тем, что на концах хромосом в этих клетках имеются – теломеры, способные с каждым делением укорачиваются на 300 – 400 нуклеотидов.

Установлено, что теломеры играют важную роль в стабилизации хромосом во время репликации, поэтому их отсутствие приводит к остановке митоза в периодах G_1 и G_2 .

Существуют исключения в виде «иммортальных» или бессмертных клеток, к которым относятся половые клетки, стволовые тотипотентные клетки, клетки злокачественных опухолей, способные делиться неограниченное число раз.

При остановке клеточного деления активируются гены (p21, p53), которые блокируют митоз в «чек пойнтах» G_1 и G_2 – что является сигналом для генетических программ, которые отвечают за клеточную безопасность. Остановка митоза в клетках, достигших лимита Хейфлика, вызывает активацию гена p53 и выработку белка p53, индуцирующего апоптоз и тогда стареющая клетка погибает и прекращает свое существование (Рисунок 51).

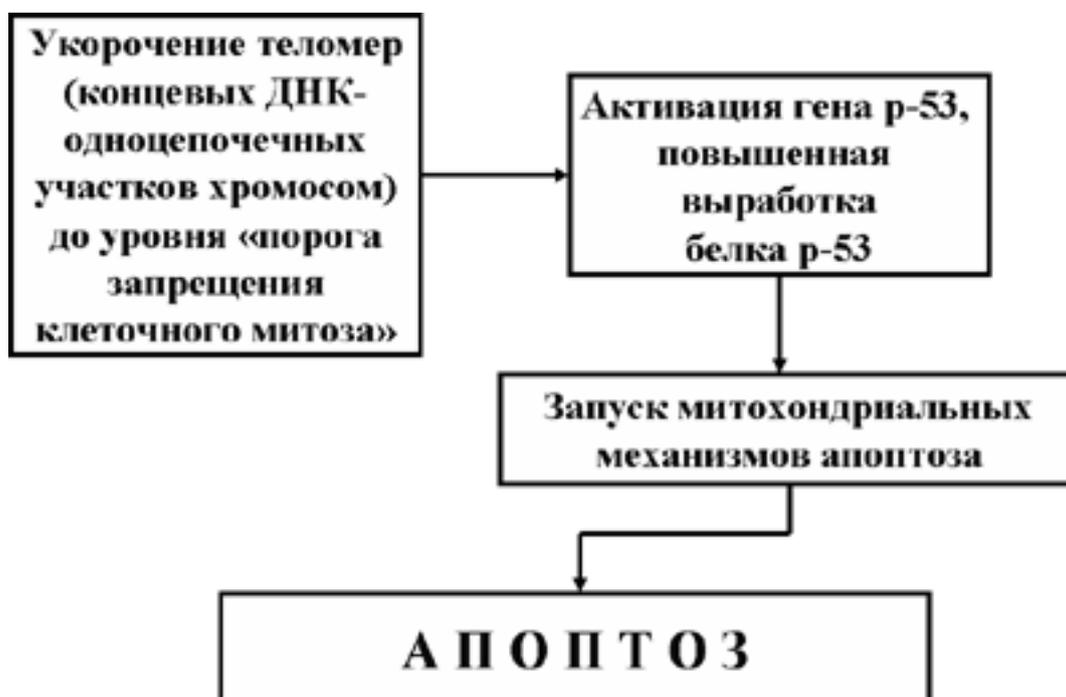


Рисунок 51 – Развитие апоптоза в стареющих клетках

Злокачественные опухоли и апоптоз. При изучении роли канцерогенеза в развитии опухолей, было выявлено, что одним из наиболее эффективных методов борьбы организма с малегнизацией клеток является их апоптоз.

Апоптозный механизм способен реагировать на возможность малегнизации клетки тут же, когда обнаруживаются первичные повреждения ДНК, активация механизмов апоптоза наступает в случае отсутствия эффекта от деятельности репаративных систем, не способных восстановить повреждения ДНК.

Иммунные механизмы борьбы с клетками злокачественных опухолей включаются тогда, когда в организме уже появились аномальные клетки-мутанты.

Нерепарированное повреждение ДНК обеспечивает включение и активацию гена опухолевого супрессора p53, повышенную выработку белка p53, что приводит к развитию последовательных событий: - активации гена p21 и выработке белка p21, блокирующего митотический цикл в периодах G₁ и G₂, блокированию антиапоптозных факторов (в частности, белка Bcl-2, запуска митохондриального механизма апоптоза и его завершения, благодаря активации каскада «казнящих каспаз (Рисунок 52).



Рисунок 52 - Роль опухолевого супрессора p53 в борьбе с малегнизацией клеток

(интернет ресурсы - <http://lib.znate.ru/docs/index-59435.html?page=2>)

Так развиваются события в том случае, если развитие апоптоза опережает интенсивность пролиферации малегнизированных клеток. Однако, если антиапоптозные механизмы сохраняют жизнь клетки-мутанта и она успевает дать начало клону своих потомков, опухоль быстро растет со всеми последствиями этого процесса (Рисунок 53).



Рисунок 53 - Радиотерапия опухолей и апоптоз

Апоптоз может участвовать в развитии нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз и другие. Апоптоз нервных клеток при этих заболеваниях был выявлен морфологическими методами и в экспериментальных исследованиях, при которых в ЦНС лабораторных животных вводились про- и антиапоптотные факторы (Рисунок 54).

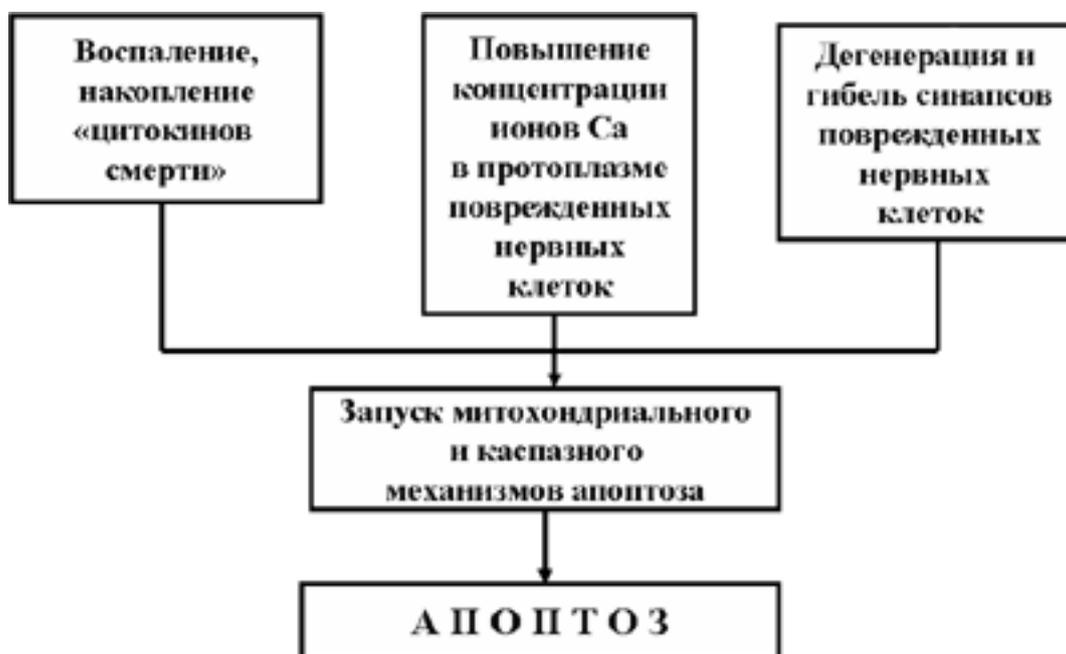


Рисунок 54 – Развитие апоптоза при нейродегенеративных заболеваниях (на примере болезни Альцгеймера)
(интернет ресурсы - <http://lib.znate.ru/docs/index-59435.html?page=2>)

Процесс регулирования клеточной гибели может быть разделен на несколько различных фаз: фаза инициации апоптоза, проведение сигнала, активация каспаз, активация эндонуклеаз и деградация ДНК, в результате чего наступает гибель клетки.

Если первые фазы различаются в зависимости от типа клеток и от апоптоз - индуцирующего сигнала, то этап деградации ДНК - универсален для большинства клеток. Эта фаза является переходом к необратимой - заключительной стадии апоптоза, которая находится под контролем белков семейства Bcl-2 (Рисунок 55).

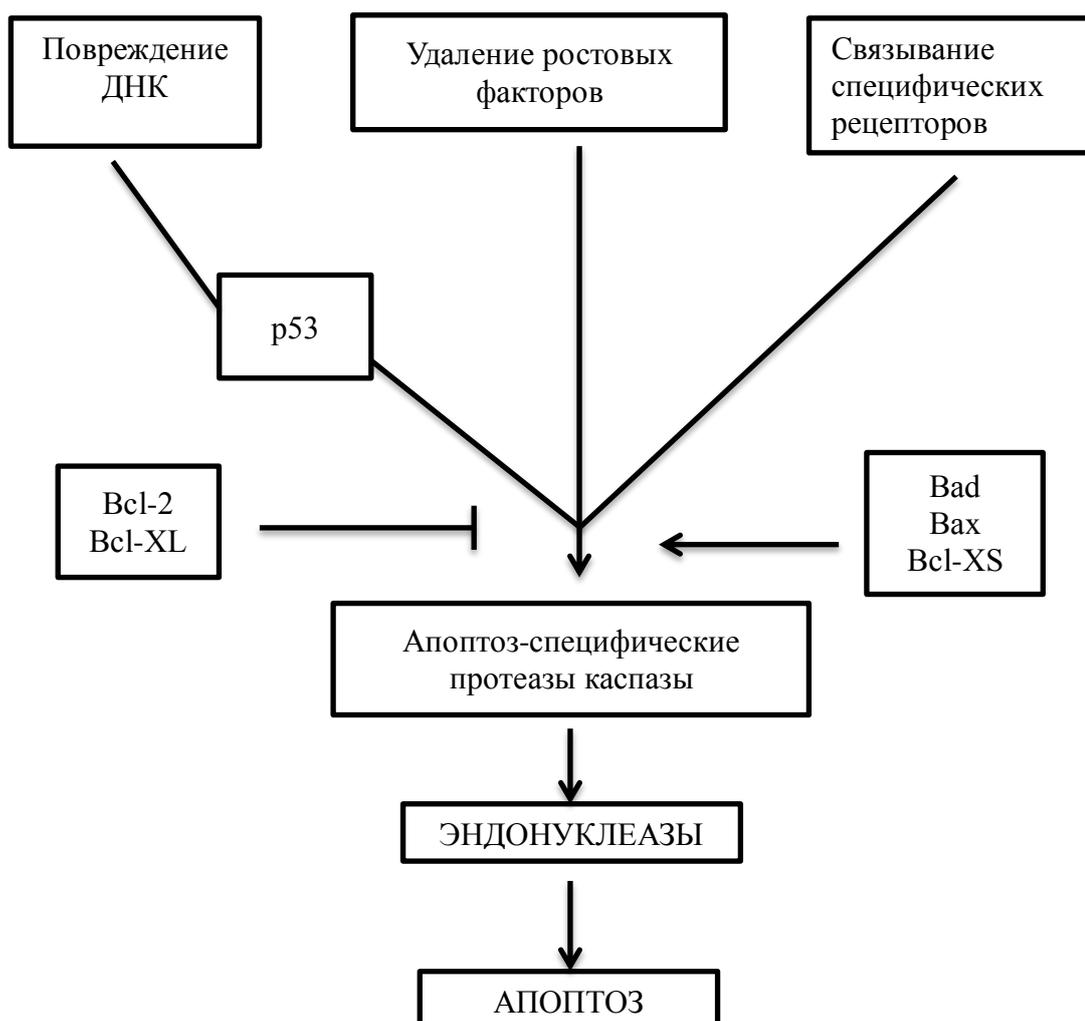


Рисунок 55 - Роль белков в регуляции апоптоза
(Белушкина Н.Н., 2002 г.)

Апоптоз при патологических состояниях. Апоптотическая гибель клеток наблюдается и при различных патологических состояниях. Например, гибель клеток в эндокринно-зависимых тканях, при снижении концентрации соответствующего гормона (в клетках простаты после кастрации и коры надпочечников после подавления синтеза АКТГ глюкокортикоидами).

Апоптоз вызывает гибель клеток при уменьшении кровоснабжения органа (ишемическая болезнь сердца) при сердечной недостаточности (СН). Специфические рецепторы клеточной гибели FAS/APO-1 широко представлены практически во всех клеточных структурах.

Развитие апоптоза иммунных клеток – это механизм, который используется организмом для нейтрализации нарушений иммунной системы. Применяемые гомеостатические механизмы тщательно идентифицированы.

Помимо изучения окислительного стресса в плазме крови женщин и мужчин в обследованных регионах Приаралья, нами проводилось изучение апоптической гибели клеток. Как известно, апоптоз является естественным процессом, который принимает участие в эмбриогенезе, дифференцировке, старении. Недостаточность проявления апоптоза может отражаться на процессах патоморфоза, элиминации клеток с генетическими нарушениями, выражаться в форме различных дефектов развития, аутоиммунных процессов и злокачественных опухолей.

Проведенное исследование содержания Fas – лиганда в человеческой сыворотке ставило целью отследить интенсивность процесса апоптоза в первую очередь в иммунокомпетентных клетках.

Максимальное содержание FasL в сыворотке крови у мужчин и женщин выявлено в населенных пунктах Актюбинской области в п. Ыргыз, что отражает превалирование процессов дегенерации и апоптоза лимфоцитов над дифференцировкой и активацией.

Заключение

Влияние комплексных негативных факторов окружающей среды вызывают нарушение ультраструктурных компонентов клетки, клеточной мембраны, информационных процессов в клетке, патологии репродукции клеток, приводит к изменению их функций, что проявляется в форме патологических процессов вначале на клеточном уровне, а затем и на организменном, что подтверждается результатами собственными исследованиями.

Нами изучено состояние окислительного стресса организма и эндогенной интоксикации организма приводящим к нарушениям свободно-радикального окисления в клетках, изменениям ферментативного звена антиоксидантной защиты клетках в мужском и женском организме.

По нашему мнению эндотоксикоз обусловлен цепью взаимосвязанных друг с другом патобиохимических реакций. Одной из причин развития клеточного эндотоксикоза является избыточное накопление промежуточных и конечных продуктов метаболизма, которые оказывают деструктивное и токсическое действие на клетки и показывают степень эндогенной интоксикации, независимо от характера возбудителя, что актуально для применения в клинической практике.

Длительное воздействия негативных факторов среды, таких как пыле-солевые-аэрозоли и экотоксиканты химической природы провоцируют нарушение окислительного метаболизма клетки, сопровождающегося активацией свободных радикалов, при неэффективной и недостаточной работе антиоксидантной системы, приводят к развитию окислительного стресса в организме и как следствие появление вторичных продуктов (МДА) липоперекисного каскада и повышению концентрации оксида азота в биологических жидкостях у обследованных лиц.

В свою очередь данные негативные факторы приводят к нарушению целостности и проницаемости клеточных мембран, так как при длительном воздействии негативных факторов окружающей среды первичной мишенью является клеточная мембрана в которой нарушаются механизмы передачи сигналов, в том числе функция G- белков, приводящие к деструктивным процессам ядерного материала клетки, что, проявляется повышением содержания внеклеточных нуклеиновых кислот и гистонподобных белков, данные процессы сопровождаются развитием эндогенной интоксикации, что, подтверждается наличием среднемолекулярных пептидов в биологических жидкостях. Перечисленные процессы, протекающие в клетках могут вызвать апоптотические изменения клеток, о чем свидетельствуют полученные результаты иммунологического исследования.

По нашему мнению, рост патологий аутоиммунной системы, развитие эндокринопатий, нарушение репродуктивного и гормонального статусов связаны с нарушением внутриклеточных метаболических процессов, а именно развитием окислительного стресса, приводящего к развитию патологических процессов различного генеза на молекулярно-клеточном уровне при воздействии экотоксикантов различного происхождения.

На основании вышеизложенного разработана рабочая гипотеза (схема 1).

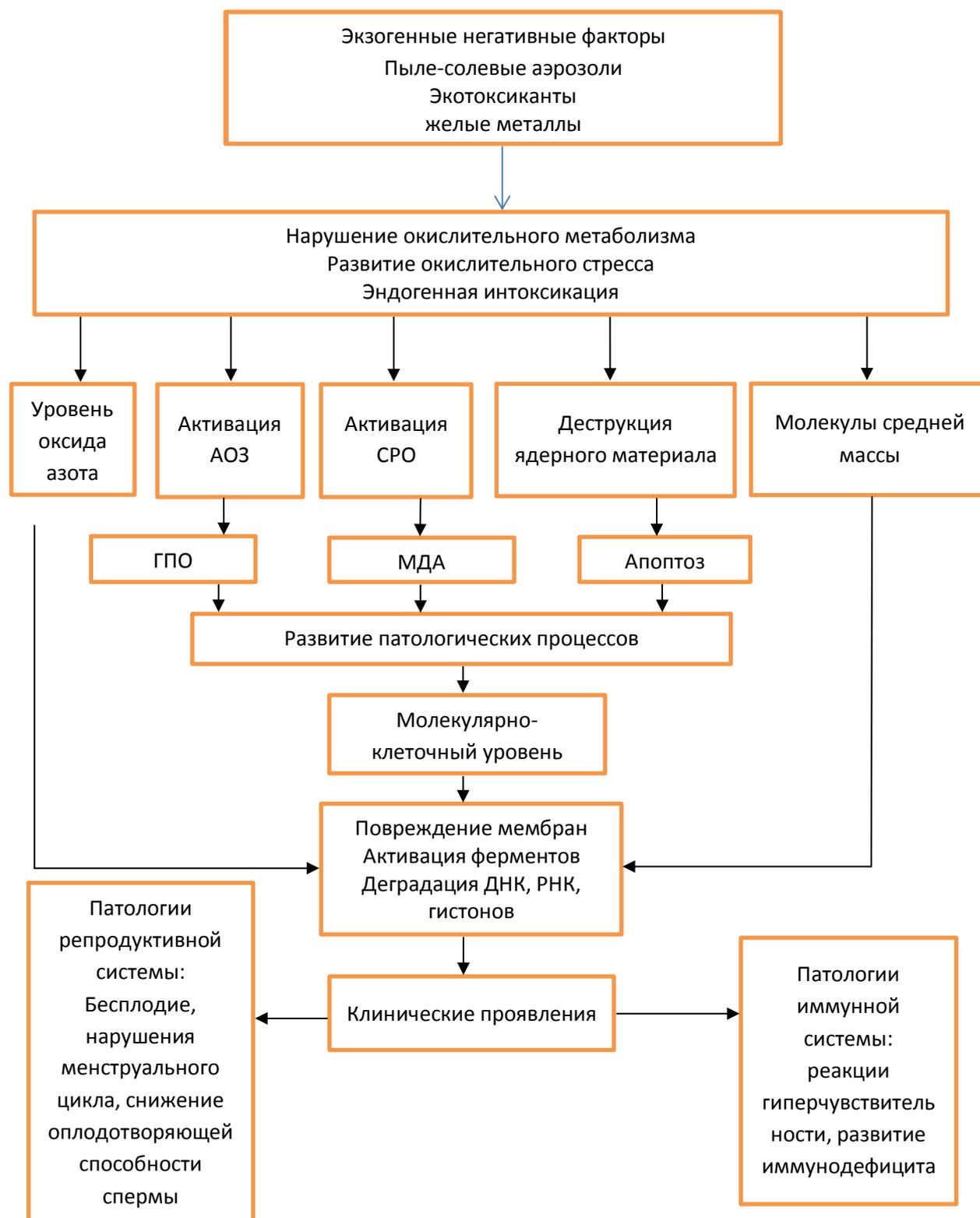


Схема 1 – Механизм патогенного влияния экологических факторов на организм

Таким образом, знание клеточной патологии помогает понять морфологическую сущность того или иного патологического процесса в клетках, тканях и органах, особенности его течения, а также позволит

определить и наметить рациональные и эффективные пути терапии и профилактики патологии клеток.

Различают первичную профилактику, которая включает в себя мероприятия направленные на предотвращение действия различных факторов и условий которые способствуют повреждению клеток. Данные мероприятия используются до воздействия патогенного фактора на клетку, включающие методы, которые направлены на повышение устойчивости клеток (и организма в целом) к большой группе патогенных факторов. Повышение устойчивости клеток организма обеспечивается за счет активации защитно-адаптационных механизмов клетки, то есть, еще до контакта с патогенными факторами, клетка усиливает свои структурно-функциональные свойства, позволяющим в условиях взаимодействия с ними уменьшить степень повреждения.

При действии патогенных факторов и соответственно при возникновении угрозы поражения клеток данными агрессивными факторами используют химические препараты (дезинфицирующие вещества, биологически активные добавки (БАД), лекарственные препараты, и др.), которые наиболее эффективны. Например, используют различные дезинфицирующие вещества или назначают антибиотики после травм, или в послеоперационном периоде.

Для защиты от действия ионизирующего излучения применяют биологически активные добавки (витамины С, адаптогены), лекарственные препараты (цистимин, мексамин и др.), обладающие радиопротекторным эффектом.

Этиотропная терапия. Классическим примером данной терапии является применение лекарственных средств (антибиотиков, сульфаниламидов) применяемых против определенных биологических факторов, для устранения недостатка или избытка компонентов продуктов питания (аминокислот, жиров, микроэлементов и др.), которые приводят к нарушению функции клеток.

Патогенетическая профилактика или вторичная профилактика направлена на предупреждение развития патологии клетки, она тесно связана с патогенетической терапией. Применяется с учетом знаний механизмов патогенеза конкретного вида повреждения клетки. Например, для уменьшения степени повреждения мембран клетки вводят блокаторы фосфолипаз, протеаз (делагил, никотинамид), мембраностабилизирующие препараты.

Основными задачами патогенетической терапии являются использование различных лекарственных средств, с целью:

1. устранения или уменьшения степени нарушений энергообеспечения клетки.

2. стабилизации (защиты) плазмолеммы и ферментов клетки.

3. коррекции водно-электролитного гомеостаза клетки – оптимизации регуляторных влияний на клетку и интеграции внутриклеточных процессов в изменившихся условиях.

4. активация защитно-компенсаторных механизмов, способствующих повышению резистентности клетки и обеспечивающих компенсацию, восстановление и приспособление клетки в изменившихся условиях.

Ситуационные задачи

Задача 1. При исследовании больного у него обнаружили отсутствие чувствительности клеток к андрогенам. При хромосомном наборе ХУ у больного развивается женский фенотип. При наличии женских наружных половых органов имеются семенники и нормальный уровень андрогенов. Определите тип патологии и причину появления.

Задача 2. К врачу обратился юноша с жалобами на появление ксантом на коже, сердечными болями. Анализы показали высокую гиперхолестеринемию, ишемическую болезнь сердца. Объясните, нарушение какой структуры клетки может привести к развитию семейной гиперхолестеринемии.

Задача 3. К врачу обратились родители, ребенок которых страдает нарушением пищеварения, вздутием живота, стул обильный зловонный. Исследования показали, что железы выделяют густую слизь, наблюдается нарушение хлоридов. Объясните, нарушение какой структуры клетки приводит к развитию муковисцидоза.

Задача 4. Девочке в возрасте 5 лет необходимо было определить уровень глюкозы в крови для выявления сахарного диабета. Девочка перед проведением пробы в лаборатории очень волновалась, плакала. Содержание глюкозы в крови оказалось равным 7,0 ммоль/л. Можно ли утверждать после такого исследования, что у ребенка сахарный диабет?

Задача 5. Сотрудник АЭС обратился к врачу на общую слабость, недомогание. При проведении биохимических исследований определили резкое уменьшение содержания фермента каталазы в клетках и активацию реакций перекисного окисления липидов. Определите, нарушение функции и числа какого органоида клетки активируют данные реакции.

Задача 6. К врачу гинекологу обратилась женщина, по поводу бесплодия. Женщина много лет проработала в зоне АЭС и находилась в зоне высокого радиационного фона. Объясните, можно ли ожидать благоприятного прогноза?

Задача 7. Научным сотрудникам для работы в зоне повышенной радиационной опасности было рекомендовано использовать в пищу в качестве добавок-укроп, чеснок, лук, салат, одуванчики, чернослив, хрен. Прокомментируйте и дайте объяснение этим рекомендациям.

Задача 8. При изучении действия радиации на генетический аппарат, лабораторных животных подвергали тотальному облучению большой мощности. Какие генетические эффекты можно прогнозировать?

Задача 9. Мужчина 27 лет, участвовавший в течении 2-х лет в ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС, обратился к андрологу по поводу бесплодия. Объясните, в чем причина бесплодия и возможен ли благоприятный прогноз.

Задача 10. У молодой женщины обнаружена митохондриальная патология: нарушение сердечного ритма гипертрофическая кардиопатия. Объясните, кому из потомков мать передаст данное заболевание.

Задача 11. Студент, на лабораторном занятии приготовил временный препарат из клеток эпителиальной ткани, который при исследовании под микроскопом оказался поврежден: разбито предметное и покровное стекла. Объясните, как это могло произойти? Соблюдал ли студент правила работы с микроскопом.

Задача 12. Студенты проводили облучение в лабораторных условиях экспериментальных белых крыс для изучения репродуктивного статуса и отобрали в виварии животных разного пола и возраста с массой тела 50-60 гр. Определите, какую ошибку совершили студенты и получают ли они достоверные результаты.

Задача 13. В современных условиях большое внимание уделяется вопросам диагностики окислительного стресса, так как он ведет к развитию ряда заболеваний (сахарный диабет, нейродегенеративные болезни, нарушение мозгового кровообращения). Что можно отнести к маркерам окислительного стресса и какие методы существуют для их определения.

Тестовые задания

1. К врачу обратились родители, ребенок которых страдает нарушением пищеварения, вздутием живота, стул обильный, зловонный. Исследования показали, что железы выделяют густую слизь, наблюдается нарушение транспорта хлоридов. Нарушение какой структуры клетки приводит к развитию муковисцидоза.

- А) ЭПР
- В) аппарат Гольджи
- С) мембраны
- Д) лизосомы
- Е) митохондрии

2. В клинику поступил больной. При исследовании у него обнаружили отсутствие чувствительности клеток к андрогенам. При хромосомном наборе ХУ у больного развился женский фенотип. При наличии женских половых органов имеются семенники и нормальный уровень андрогенов. Поставлен диагноз: тестикулярная феминизация. Нарушение какой структуры клетки приводит к развитию данной патологии

- А) аппарат Гольджи
- В) ЭПР
- С) лизосомы
- Д) клеточного центра
- Е) мембраны

3. На прием к врачу привели ребенка 3-х лет, с жалобами на нервозность, мышечную слабость, отставание в росте, малое количество зубов. Рентгенологические исследования показали запаздывание скелетного роста, костные деформации. Биохимические исследования показали снижение фосфора в крови и высокий его уровень в моче. Поставили предварительный диагноз витамин – Д резистентный рахит. Нарушение какой структуры клетки приводит к развитию данного заболевания.

- А) мембраны
- В) лизосомы
- С) ЭПР
- Д) митохондрии
- Е) аппараты Гольджи

4. К врачу обратился юноша с жалобами на появление кожных ксантом, систематические боли в сердце. При обследовании выявили высокую гиперхолестеринемию, ишемическую болезнь сердца. Поставлен диагноз семейная гиперхолестеринемия. Нарушение какой структуры клетки вызывают развитие этого заболевания.

- А) ЭПР
- В) мембраны
- С) лизосом
- Д) клеточного центра
- Е) цитоскелета

5. Мужчина 40 лет, поступивший в клинику, в течение года принимал лекарственные препараты без назначения врача, жалуется на плохое самочувствие, слабость. Цитогенетические исследования показали резкое уменьшение числа митохондрий в клетках из – за передозировки лекарств. Какие процессы в клетке были нарушены из – за уменьшения числа митохондрий.

- A) синтез углеводов
 - B) синтез АТФ
 - C) синтез белков
 - D) синтез липидов
 - E) синтез стероидов
6. В цитогенетической лаборатории при исследовании клеток у больного, были обнаружены дефекты лизосом. Нарушение какой функции клетки можно ожидать при нарушении лизосом:
- A) транспорта
 - B) синтеза белка
 - C) внутриклеточного расщепления молекул
 - D) модификации биомолекул
 - E) синтеза углеводов
7. На прием к педиатру привели ребенка 4-х лет, с жалобами на повышение температуры, появление сыпи красного цвета. Врач диагностировал вирусное заболевание краснуху. Нарушение какого компонента клеточной мембраны приводит к внедрению вирусов в клетку.
- A) белков
 - B) липидов
 - C) фосфолипидов
 - D) гликокаликса
 - E) холестерина
8. В лаборатории молекулярной биологии при исследовании клеток больного мальчика обнаружили нарушения в гене регулятора трансмембранного переноса. В результате у ребенка нарушен транспорт ионов Cl^- и Na^+ через клеточные мембраны. Какую патологию можно диагностировать у больного ребенка?
- A) нейрофиброматоз
 - B) миодистрофия
 - C) муковисцидоз
 - D) мукополисахаридоз
 - E) гликолипидоз
9. Мужчина 35 лет, долгое время работал в зоне действия ионизирующей радиации. У него наблюдается ухудшение самочувствия, нарушение обмена веществ. Цитогенетические и биохимические исследования показали резкое уменьшение числа пероксисом и накопление продуктов перекисного окисления липидов. Недостаток какого фермента пероксисом вызывает нарушения окислительного метаболизма
- A) каспазы
 - B) каталазы
 - C) эндонуклеазы
 - D) гидролазы
 - E) рестриктазы
10. При вскрытии умершего от инфаркта миокарда больного обнаружены клетки с измененной формой ядра, большим содержанием Ca , деструкцией мембран, набуханием митохондрий. Какой вид гибели клеток вызвал инфаркт:
- A) некроз
 - B) цитолизис
 - C) апоптоз

- D) атрофия
E) кариорексис
11. Клетки, способные дифференцироваться в нескольких направлениях и формировать различные клеточные типы называются:
- A) клетки-маркеры
 - B) стволовые клетки
 - C) дифференциальные клетки
 - D) клетки-предшественницы
 - E) зрелые клетки
12. В каком органоиде осуществляется сортировка, химическая модификация биомолекул, формирование лизосом?
- A) ядре
 - B) рибосомах
 - C) митохондриях
 - D) ядрышке
 - E) комплексе Гольджи
13. Какую роль играют эндонуклеазы во время апоптоза?
- A) осуществляют защиту ДНК, репликацию ДНК
 - B) разрушают различные цитозольные белки по остатку аспарагиновой кислоты
 - C) разрушают ДНК хромосом на фрагменты
 - D) активируют инициаторную каспазу
 - E) обеспечивают активацию цитохрома C
14. У больного 84 лет, в послеоперационный период обнаружены пролежни, кожные покровы воспаленные, красно-коричневого цвета. Какой вид гибели клеток можно предположить:
- A) кариолизис
 - B) кариорексис
 - C) апоптоз
 - D) некроз
 - E) цитолизис
15. В хирургическое отделение доставлен мужчина с обморожением ног. Врач при осмотре обнаружил темно-коричневый и черный цвет кожных покровов и предположил, что клетки погибают вследствие:
- A) апоптоза
 - B) кариолизиса
 - C) некроза
 - D) плазмолизиса
 - E) цитолизиса
16. В каких клетках человека отсутствует комплекс Гольджи?
- A) гепатоцитах и альвеолоцитах
 - B) сперматозоидах и эритроцитах
 - C) ретикулоцитах
 - D) эпителиальных клетках
 - E) мышечных клетках
17. Какие органеллы представлены двумя субъединицами, состоящими из белка и РНК?
- A) митохондрии
 - B) лизосомы

- С) аппарат Гольджи
- Д) рибосомы
- Е) ядро

18. В эукариотических клетках имеется органелла, в которой осуществляется биохимическая модификация веществ. Многие вещества, поступающие в клетку, проходят через этот комплекс и в последующем от него отпачковываются пузырьки, содержимое которых доставляется по назначению к другим органоидам клетки, либо за ее пределы. Определите какой органоид клетки выполняет данную функцию.

- А) аппарат Гольджи
- В) пероксисомы
- С) ЭПР
- Д) ядро
- Е) лизосомы

19. При осмотре новорожденного, акушер-гинеколог обратил внимание на то, что в области твердого неба имеется полость. Этот дефект является результатом:

- А) атрофии
- В) некроза
- С) цитолизиса
- Д) апоптоза
- Е) кариопикноза

20. Белок порин входит в состав наружной мембраны какого органоида?

- А) лизосом
- В) пластид
- С) митохондрий
- Д) рибосом
- Е) ЭПР

21. Как называются органеллы, разлагающие в клетке пероксид водорода?

- А) лизосомы
- В) ядро
- С) аппарат Гольджи
- Д) ЭПР
- Е) пероксисомы

22. В молекулярной биологии в процессах межклеточной сигнализации большую роль играют небольшие молекулы, которые быстро и в больших количествах синтезируются в клетке в ответ на активацию рецептора. Эти молекулы усиливают поступающие сигналы. Какое название получили эти молекулы?

- А) первичные мессенджеры
- В) сигнальные молекулы
- С) вторичные мессенджеры
- Д) третичные мессенджеры
- Е) клеточные рецепторы

23. Какой двумембранный органоид животной клетки является полуавтономным, имеет собственную ДНК и рибосомы?

- А) хлоропласт
- В) митохондрия
- С) ядрышко
- Д) пероксисома
- Е) аппарат Гольджи

24. Какие элементы клетки имеют волокнистую ламину, расположенную на внутренней поверхности ядерной мембраны и связанную с ядерными порами?
- А) микротрубочки
 - В) микрофиламенты
 - С) промежуточные филаменты
 - Д) колагеновые волокна
 - Е) ламиновые филаменты
25. В какой структуре клетки осуществляется синтез р-РНК и начало сборки рибосом?
- А) в митохондриях
 - В) в ядрышке
 - С) на ЭПР
 - Д) в аппарате Гольджи
 - Е) на ядерных мембранах
26. Как называется внутреннее содержимое ядра?
- А) макронуклеус
 - В) микронуклеус
 - С) нуклеоплазма
 - Д) кариолема
 - Е) перинуклеарное пространство
27. Для какой формы гибели клеток характерно данное описание: происходит конденсация хроматина и сжатие клетки (вследствие конденсации цитоплазмы), хроматин располагается по периферии ядра в виде плотной гомогенной массы, цитоплазма уменьшается в объеме, клетка меняет свою форму?
- А) апоптоз
 - В) некроз
 - С) автолиз
 - Д) фагоцитоз
 - Е) пиноцитоз
28. Как называется органелла клетки, состоящая из 2 мембран, матрикса, крист, имеющую собственный генетический аппарат?
- А) ядро
 - В) лизосома
 - С) митохондрия
 - Д) рибосома
 - Е) клеточный центр
29. Как называется органелла клетки, представляющую собой округлые мембранные мешочки, наполненные гидролитическими ферментами?
- А) ядро
 - В) лизосома
 - С) митохондрия
 - Д) рибосома
 - Е) клеточный центр
30. Исследователь при электронном микроскопировании печени, обнаружил, что некоторые клетки, распались на фрагменты, окруженные мембраной. В некоторых имеются органеллы, в других части ядра. Воспалений не обнаружено. Он расценил эти изменения как проявления:
- А) атрофии
 - В) апоптоза

- С) некроза
- Д) гипоплазии
- Е) кариорексис

31. Клетки лабораторного животного подвергали избыточному рентгеновскому излучению, в результате чего образовались белковые фрагменты в цитоплазме. Какая из органелл клетки принимает участие в их утилизации?

- А) лизосомы
- В) комплекс Гольджи
- С) рибосомы
- Д) эндоплазматический ретикулум
- Е) клеточный центр

32. В культуре тканей рентгеновским облучением повреждены ядрышки. Синтез каких органелл клетки будет затруднен?

- А) эндоплазматической сети
- В) рибосом
- С) лизосом
- Д) комплекса Гольджи
- Е) митохондрий

33. Мукополисахаридоз относится к болезням накопления. Из-за отсутствия ферментов нарушается расщепление полисахаридов. У больных наблюдается повышенное выделение их с мочой и накопление в одной из органелл клеток. В каких органеллах накапливаются мукополисахариды?

- А) в комплексе Гольджи
- В) в лизосомах
- С) в клеточном центре
- Д) в эндоплазматическом ретикулуме
- Е) в митохондриях

34. В лаборатории, с помощью шпателя сделан соскоб слизистого эпителия ротовой полости человека. В неразрушенных эпителиальных клетках окрашенного мазка обнаружены овальные ядра, неодинаковые по размерам. Каким путем могло произойти деление этих клеток?

- А) митоз
- В) бинарное деление
- С) шизогония
- Д) амитоз
- Е) мейоз

35. При микроскопическом исследовании ткани печени было обнаружено, что некоторые клетки распались на небольшие фрагменты с отдельными органеллами и остатками ядра, окруженные мембраной. Воспалительная реакция отсутствует. Для какого патологического процесса характерны эти изменения?

- А) апоптоз
- В) кариорексис
- С) плазморексис
- Д) плазмолиз
- Е) некроз

36. При обработке клетки химическими реагентами, которые нарушили конформацию белков, входящих в состав цитоплазматической мембраны. Какие функции клеточной мембраны будут нарушены?

- А) барьерная
 - В) информационная
 - С) сегрегация и накопление продуктов
 - Д) образование контактов
 - Е) транспортная и рецепторная
37. При действии ионизирующего излучения на клетки, они утратили способность к формированию межклеточных контактов. Какая структура клетки была повреждена?
- А) митохондрии
 - В) гликокаликс
 - С) пластинчатый комплекс
 - Д) микрофибриллы
 - Е) центросома
38. В клетке нарушена структура рибосом. Какие процессы пострадают прежде всего?
- А) синтез нуклеиновых кислот
 - В) синтез белка
 - С) синтез углеводов
 - Д) синтез липидов
 - Е) синтез минеральных веществ
39. Цитохимическим исследованием выявлено высокое содержание в цитоплазме гидролитических ферментов. Об активности каких органелл из перечисленных ниже свидетельствует этот факт:
- А) клеточного центра
 - В) ЭПР
 - С) лизосом
 - Д) полисом
 - Е) митохондрии
40. Одной из причин ревматизма у человека на клеточном уровне является сама разрушение клеток хряща через разрушение структуры одного из органоидов. Что это за органоид:
- А) комплекс Гольджи
 - В) клеточный центр
 - С) лизосома
 - Д) митохондрия
 - Е) рибосома
40. После митоза в дочерних клетках отдельные органеллы образуются de novo, другие – только путем удвоения существующих. Укажите, какие из представленных ниже имеют способность к саму удвоению:
- А) митохондрии
 - В) агранулярная эндоплазматическая сеть
 - С) пластинчатый комплекс
 - Д) гранулярная эндоплазматическая сеть
 - Е) рибосомы
41. На электронограммах клеток печени крысы хорошо заметны структуры овальной формы, двумембранные, внутренняя мембрана которых образует кристы. Какие эти органеллы?
- А) пероксисомы
 - В) митохондрии
 - С) центросомы

- D) рибосомы
E) лизосомы
42. Клетку лабораторного животного подвергли избыточному рентгеному облучению. В результате образовались белковые фрагменты в цитоплазме. Какой органоид клетки примет участие в их утилизации:
- A) клеточный центр
B) комплекс Гольджи
C) лизосомы
D) рибосомы
E) ядро
43. В растущих тканях организма человека не прерывно синтезируются специфические клеточные белки. Этот процесс происходит благодаря работе:
- A) лизосом
B) рибосом
C) клеточного центра
D) гладкой ЭПР
E) ядрышка
44. В клетках печени и почек человека содержатся много численные одномембранные органеллы размером 0,2 - 1,5 мкм, которые заполнены ферментами, обеспечивающими H_2 O_2 зависимое дыхание и биосинтез желчных кислот. Как называются эти органеллы?
- A) пероксисомы
B) лизосомы
C) рибосомы
D) пищеварительные вакуоли
E) аппарат Гольджи
45. Для успешного оплодотворения необходимо, чтобы произошла акросомная реакция, вследствие которой ядро сперматозоида попадает в середину яйца. Назовите органеллу, которая принимает наибольшее участие в образовании акросомы:
- A) рибосомы
B) митохондрия
C) ЭПР
D) комплекс Гольджи
E) клеточный центр

Ответы к ситуационным задачам:

1. Тестикулярная феминизация или синдром нечувствительности к андрогенам, вследствие отсутствия специфических рецепторов на мембране.
2. Нарушение клеточной мембраны, мутации генов кодирующих рецептор ЛПНП и рецепторов эндоцитоза.
3. Нарушение клеточной мембраны и нарушение трансмембранного переноса, вызвана мутацией в гене белка обеспечивающего функцию хлоридного канала.
4. Диагностировать сахарный диабет нельзя, так как сахар может повыситься в результате стресс-реакции, при увеличении уровня адреналина в крови, активирующего расщепление гликогена.
5. Нарушение структуры и числа пероксисом, которые содержат фермент антиоксидантной защиты каталазу, подавляющую процессы ПОЛ.
6. Прогноз неблагоприятный, так как высокие дозы радиационного излучения, способны опустошить клеточный состав яичника, находящихся на разных стадиях овогенеза.
7. Рекомендации по использованию в пищу фруктов, овощей, салата связаны с наличием в них антиоксидантов, способных тормозить образование свободных радикалов и активацию процессов ПОЛ.
8. Возможны мутации соматических и половых клеток, способных вызывать снижение фертильности и эффекты, не совместимые с жизнью.
9. Вследствие действия высоких радиации произошла гибель клеток семенников, находящихся на разных стадиях роста. Прогноз неблагоприятный.
10. Митохондрии наследуются по материнской линии, в большинстве случаев болеют девочки.
11. Неправильное обращение с макровинтом при работе с микроскопом, так как необходимо смотреть не в окуляр, а сбоку, для контроля расстояния от объектива до микропрепарата.
12. Для проведения эксперимента и получения достоверных результатов необходимо отбирать животных одного пола и одинаковой массы, причем животные с массой 50-60 граммов не достигли половой зрелости, что делает невозможным определение репродуктивного статуса.
13. В современных условиях маркерами окислительного стресса в клетках могут служить оксид азота, продукты ПОЛ, МДА, содержание внеклеточных ДНК, РНК. Для диагностики окислительного стресса используют методики по определению оксида азота, продуктов ПОЛ-АОЗ, МДА, внеклеточных ДНК, РНК и метод ВЭЖХ.

Ответы на тестовые задания:

- 1 – С; 2 – Е; 3 – А; 4 – В; 5 – В; 6 – С; 7 – D; 8 – С; 9 – В; 10 – А; 11 – В; 12 – Е; 13 – С; 14 – D; 15 – С; 16 – В; 17 – D; 18 – А; 19 – D; 20 – С; 21 – Е; 22 – С; 23 – В; 24 – Е; 25 – В; 26 – С; 27 – А; 28 – С; 29 – В; 30 – В; 31 – А; 32 – В; 33 – В; 34 – D; 35 – А; 36 – Е; 37 – В; 39 – С; 40 – С; 41 – В; 42 – С; 43 – В; 44 – А; 45 – D.

Список используемой литературы

Основная:

1. Красников В.Е. Патология клетки. Учебное пособие. /Красников В.Е. – 2008.-Владивосток. 80 с.
2. Крутецкая З.И. Механизмы внутриклеточной сигнализации /Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Курилова Л.С. //ЦОП типографии Из-во СПбГУ. - 2003. - С.208.
3. Медицинская биология и генетика клетки /В.С. Михеев, ч 4, ч.5, СПб.: Изд-во НИИХ СПбГУ, 2006. - 112 с.
4. Сахаров А. В. Патология клетки: учебное пособие /А.В. Сахаров, А.А. Макеев. - Новосибирск: Изд. ФГБОУ ВПО НГПУ, 2013. -104 с.
5. Фаллер, Джеральд М. Молекулярная биология клетки: руководство для врачей: пер. с англ. /Фаллер, Джеральд М., Д. Шилдс . - М. : Бинوم-Пресс, 2011. - 256 с.: ил.

Дополнительная:

1. Kleppisch T. cGMP signaling in the mammalian brain: role in synaptic plasticity and behaviour / Kleppisch T., Feil R. //Exp. Pharmacol. - 2009 – Vol191 – P. 549-579.
2. Lutz J., Zou H., Antus B., Heemanu U. Apoptosis and treatment of chronic allograft nephropathy with everolimus //Transplantation. - 2003, Vol.15, 76(3):508-515.
3. Максимов С.А. Морфология твердой фазы биологических жидкостей как метод диагностики в медицине. -2007. - Биллютен сибирской медицины. – Том 4. - Номер 4. - С. 80-85.
4. Симоненко В.Б., Бойцов С.А., Глухов А.А. Апоптоз и патология миокарда //Клин. мед. – 2000. – Т.78, № 8. – С. 12-16.
5. Фролов Б.А., Панфилова Т.В., Железнова А.Д. Гибель клетки: Учебное пособие. //Международный журнал экспериментального образования. - 2015. - № 5 (часть 2), - С. 181-182.
6. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию. Учебник. М., ИКЦ «Академкнига», 2004. - 494 с.
7. Шубина Т.В., Киселева О.Н. Основы цитологии: Учебное пособие. – Самара, НОУ ВПО СМИ «РЕАВИЗ», 2009. - 136 с.
8. Яковлев А.В., Яковлева О.В., Ситдикова Г.Ф. Аденилатциклазная и гуанилатциклазная системы внутриклеточных вторичных посредников: Учебное пособие. /Яковлев А.В., Яковлева О.В., Ситдикова Г.Ф. - Казань: Изд-во КГУ, 2009. - 48 с.
9. Ярилин А.А. Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии //Актуальные проблемы патофизиологии. Под ред. Б.Б. Мороза. – М.: Медицина, 2001. – С. 13-56.
10. Ярыгин В. Н. Биология: в 2 т.: учебник /ред. В. Н. Ярыгин. т. 1, 2012. - 736 с.

В нашем учебном пособии были использованы фотографии, рисунки и иллюстрации из источников приведенных в списке литературы и в текстовых ссылках.

Выражаем искреннюю благодарность авторам этих источников.

Подписано в печать 28.06.2017 г.
Объем 6,0 уч-печ.л

Формат 60/84 1/16 тираж 100 экз.
Отпечатано в типографии КГМУ
г.Караганда, ул Гоголя 40