

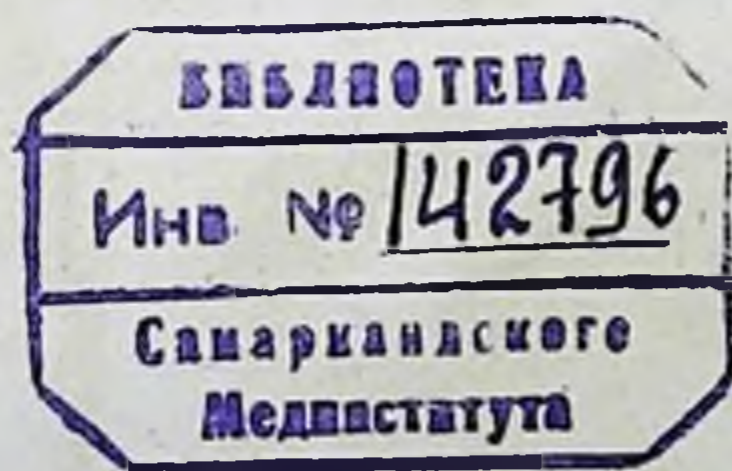
**ОСНОВЫ
ФУНКЦИОНАЛ
МОРФОЛОГИИ
КАШКИ**

И. А. АЛОВ, А. И. БРАУДЕ, М. Е. АСПИЗ

612

A 514

**ОСНОВЫ
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ
МОРФОЛОГИИ
КЛЕТКИ**



ИЗДАТЕЛЬСТВО «МЕДИЦИНА», МОСКВА — 1966



п.к.

УДК 612.014.2

1975

5-3-1

44-66

Предисловие

Каждый, интересующийся вопросами биологии, понимает, что клетка—основа для любого биологического исследования. Гистолог, физиолог, биохимик или патолог в своих поисках всегда прямо или косвенно сталкивается с проблемами цитологии. К этому следует прибавить еще лишь острый дефицит в руководствах по цитологии и отсутствие современного отечественного издания. Сказанное выше избавляет от длинного предисловия с обоснованием важности темы, поэтому мы ограничимся только несколькими частными замечаниями, относящимися к особенностям данного изложения.

В основу книги положены лекции, прочитанные авторами в разное время, и каждая глава представляет собой лекцию-обзор по одному из вопросов общей цитологии. Лекционная форма изложения позволила нам за счет сокращения «классических», но уже устаревших, основ нашего предмета расширить некоторые современные данные и представления. Лекционная форма давала также возможность останавливаться не только на апробированных фактах, но и на интересных гипотезах и дискуссиях и интерпретировать их не с позиции бесстрастного наблюдателя, а в соответствии с лич-

ными убеждениями авторов. Мы считали это полезным, так как науку двигают не только строгие факты, но и доступные проверке гипотезы, которые со временем превращаются в новые факты и теории.

По возможности мы стремились к краткости и ясности изложения материала. При этом мы не тешили себя иллюзиями, что нам удастся при очень ограниченном объеме «объять необъятное» и полностью осветить современные представления о клетке. Цитология сейчас настолько обширная и многогранная область, что для создания сколько-нибудь полных руководств формируются большие коллективы специалистов, а результатом их труда являются многотомные издания. Наша задача была более скромная: мы старались осветить лишь «основы», т. е. дать самые необходимые сведения о клетке, знание которых позволит приступить к более углубленному знакомству с отдельными специальными вопросами. Рассматривая основные проблемы, мы по возможности не останавливались на мелких, второстепенных деталях.

При подборе литературы мы отдавали предпочтение обзорам и сводкам, хотя в ряде случаев приводили и отдельные сообщения по частным, но важным вопросам. Предпочитали также публикации в отечественных изданиях (включая переводную литературу), как более доступные широкому кругу читателей. Приведенная литература заканчивается в большинстве случаев 1964 г.

Изложенные данные относятся главным образом к животной клетке. В связи с ограниченностью объема издания мы не включили, как обычно делают, специальной главы о растительной клетке, но по ходу изложения в соответствующих разделах отмечали своеобразие этого объекта.

Для понимания материала в вводной главе даются общие представления о принципах цитологических методов исследования, а для углубленного знакомства с этим вопросом — перечень специальной литературы по цитологическим методикам.

Хотя цитология — теоретическая дисциплина, но она имеет глубокие выходы в практику и, в частности, в медицину. В связи с этим мы считали целесообразным там, где это возможно, приводить данные о патологии клетки. К сожалению, медицинская цитология делает еще лишь первые шаги, и мы располагаем пока очень ограниченными сведениями об изменении клетки и внутриклеточных структур при различных патологических процессах.

Нас как цитологов радует стремительное развитие цитологических исследований, но как авторов беспокоит судьба книги. Изучение клетки идет настолько энергично, что почти

каждый день приносит новые данные. Это неизбежно приводит к тому, что различные руководства и обзоры по цитологии быстро стареют. Возможно, и наш труд постигнет такая же участь, хотя «основы» изменяются обычно медленнее. Меняются теории, но факты остаются. Поэтому мы надеемся, что и наша работа по крайней мере некоторое время будет способствовать становлению молодых цитологов. Если изложенные данные через короткое время окажутся устаревшими, то тем лучше для цитологии.

Насколько нам удалось решить поставленные задачи, будет судить читатель, и мы примем с благодарностью все замечания и соображения, которые позволят улучшить эту книгу.

В оформлении книги нам помогали В. В. Казаньев, Л. Ф. Филатчева и другие сотрудники лаборатории, которым мы приносим искреннюю благодарность.

А в т о р ы

ВВЕДЕНИЕ

Клетка—элементарная живая система, которая характеризуется дифференцировкой на ядро и цитоплазму и способностью к обмену веществ с окружающей средой. Обмен веществ, связанный с поглощением и освобождением энергии, обеспечивает поддержание и восстановление специфической организации клетки и все проявления ее жизнедеятельности: рост, развитие, размножение, приспособляемость и функционирование. Клетка является основой строения, развития и жизнедеятельности всех животных и растений.

Возникновение клетки и многоклеточности на заре жизни определило основное направление эволюции органического мира. Исторически возникшая дифференцировка протоплазмы на ядро и цитоплазму обусловила возможности мутационной изменчивости и программирования ядром синтетических процессов цитоплазмы, а после возникновения митотического деления — и закономерное распределение генетической информации в ряду клеточных поколений. Иначе говоря, возникновение ядра и взаимодействие его с цитоплазмой явились, вероятно, одним из важнейших моментов биологической эволюции. В свою очередь возникновение

многоклеточности обеспечило развитие более совершенных приспособительных реакций организма за счет специализации клеток и разделения функций между ними. Достаточно сравнить протистов с многоклеточными организмами, чтобы убедиться, что дифференцировка на клетки привела к развитию более совершенных форм организации, чем те, которые были достигнуты без расчленения организма на отдельные клетки.

В свое время много разногласий вызывала проблема соотношения клетки и организма. Исходя из механистических представлений о соотношении частей и целого, ряд исследователей рассматривал организм как «сумму клеток». При этом не учитывали, что даже в простых химических соединениях целое (например, вода — жидкость) обладает новыми качественными особенностями, которых нет в составляющих частях (водород и кислород — газы), и в свою очередь части в составе целого приобретают новые особенности (различия между атомарным и молекулярным кислородом).

Еще более сложны соотношения части и целого в органической природе. Многоклеточный организм как целое приобретает такие качественные особенности, которыми не обладает ни одна изолированная клетка. Иллюстрацией этого положения может служить явление динамической поляризации в нервной системе. Отдельный нейрон проводит нервный импульс в разных направлениях: от дендритов к нейриту и обратно. При объединении нейронов в нервную цепь в этой системе возникает новая особенность — одностороннее проведение нервного импульса (только от дендритов к нейриту следующего нейрона). Но и клетки в системе организма также приобретают новые качества. Так, известно, что клетки в культуре ткани не только не способны синтезировать 8 «незаменимых» аминокислот, как и тканевые клетки организма, но утрачивают способность к синтезу еще и 5 других аминокислот (аргинин, гистидин, цистин, тирозин, глутатион). Многочисленными экспериментами неоднократно демонстрировали различную чувствительность к наркотикам и ядам целых организмов и изолированных клеток. Особенности организма как целого и клеток как частей связаны, вероятно, с взаимодействием, взаимовлиянием и регуляцией деятельности отдельных компонентов в составе целостного организма.

Проблема целого и частей относится и к самой клетке. Клетка не только часть организма, но и целостная элементарная живая система. В ее состав входят различные внутриклеточные компоненты, выполняющие специальные функции. Дифференцировка специальных структур и интеграция их функций обеспечивают возможность разграничения от-

дельных процессов и деятельности клетки как единой целостной системы. Специализация различных компонентов клетки не доведена до монополии отдельных из них на одну определенную функцию. Между ними существует «разделение труда» и совместная согласованная деятельность их обеспечивает осуществление различных клеточных функций.

В соответствующих главах будет показано, что различные проявления жизнедеятельности клетки являются результатом согласованной работы ее взаимосвязанных компонентов. Даже такая общебиологическая функция, как дыхание, которое, казалось бы, является прерогативой одного компонента клетки — митохондрий (см. главу III), в действительности является суммарным физиологическим механизмом ряда внутриклеточных структур. Совместная согласованная работа различных внутриклеточных компонентов выявляется еще отчетливее при анализе более частных функций клетки, таких, например, как секреция и синтез ферментов (см. главу V). Изучение этой функции позволило сформулировать представление о принципе «конвейера» в выработке ферментов. Этот принцип подразумевает взаимосвязь и последовательность в деятельности отдельных компонентов клетки в осуществлении ее функций. К сожалению, не все внутриклеточные «конвейеры» уже удалось проследить, не все взаимосвязи пока выяснены. Проблема внутриклеточных связей и авторегуляции остается одной из наиболее важных и сложных.

В различных руководствах и сводках, посвященных строению и функциям клетки, для создания более полных представлений описывают обычно некую «стандартную» клетку, включающую все особенности клеточной организации, собранные из разных клеток. Такой «стандартной» клетки не существует, и ее обобщенный образ необходим лишь из дидактических соображений. Не следует забывать, что разные тканевые клетки организма неодинаковы. Мышечные клетки, нервные и печеночные клетки имеют слишком большие различия, чтобы их можно было отождествлять.

В процессе эволюции многоклеточных организмов путем специализации клеток и разделения функций между ними возникли различные типы клеток. Их особенности обусловлены филогенезом целого организма. Влияние факторов эволюции на клетки как на части организма осуществлялось опосредованно, через организм. В процессе филогенеза отбирались и закреплялись не разные виды клеток, а целые организмы (Н. Г. Хлопин, 1946). Изменчивость и отбор способствовали закреплению тех особенностей организма, которые обеспечивали прогрессивное развитие вида. Интересами развития целого организма прежде всего и определялись пути

развития тканевых клеток. В одних случаях происходило усложнение типичной клеточной структуры, а в других — упрощение ее организации.

Примером усложнения обычного клеточного типа является образование симпластов, представляющих собой многоядерные протоплазматические комплексы (например, скелетные мышечные волокна). Иллюстрацией упрощения типичной клеточной организации и потери ее некоторых типичных особенностей могут служить утрата ядер у эритроцитов млекопитающих и потеря способности к митозу нейронами взрослого организма. Прогрессивное развитие целого организма в некоторых случаях происходило даже в ущерб жизнеспособности отдельных клеток. Так, продолжительность жизни клеток покровного эпителия кишечника равна всего 1½ суткам, но массовая гибель этих клеток служит источником 50—70% всех ферментов кишечного сока. Примерами этой особенности развития тканевых клеток могут служить также ороговевающие клетки эпидермиса и секреторные клетки голокриновых желез, которые гибнут в процессе осуществления своей функции.

Наука о клетке — цитология — сравнительно молодая дисциплина. Открытие клетки английским физиком Робертом Гуком (1665) носило случайный характер и не положило начала новой науке. Лишь после создания клеточной теории (Т. Шванн, 1838—1839), утвердившей представление об единстве органического мира и общности клеточной организации растений и животных (см. З. С. Кацнельсон, 1963; С. Л. Соболев, 1949), начали накапливаться данные (вторая половина XIX столетия), которые положили начало цитологии. За сравнительно короткий период цитология стала основной биологической дисциплиной. Некоторое представление об этом стремительном развитии может дать сравнение рис. 1, 2 и 3, которые относятся соответственно к 1665, 1925 гг. и к настоящему времени.

В системе биологических наук цитология занимает особое место. Цитология наряду с генетикой, биохимией и эволюционным учением относится к общебиологическим дисциплинам, изучающим общие свойства, присущие всему живому. Большинство общебиологических дисциплин рассматривает свой предмет с какой-нибудь одной стороны. Биохимия изучает обменные процессы, генетика — закономерности наследственности и ее изменчивости, эволюционное учение — закономерности исторического развития организма. Цитология же изучает все стороны своего предмета: развитие, структуру, химию и функции клетки. В связи с этим грани между цитологией и другими общебиологическими дисциплинами нередко стираются: каждая из них имеет цитологи-

ческие аспекты, а цитология использует методы и успехи этих наук.

Предметом цитологических исследований служат не только тканевые клетки, о которых шла речь выше, но и другие, близкие к ним живые системы: протисты, синезеленые водо-

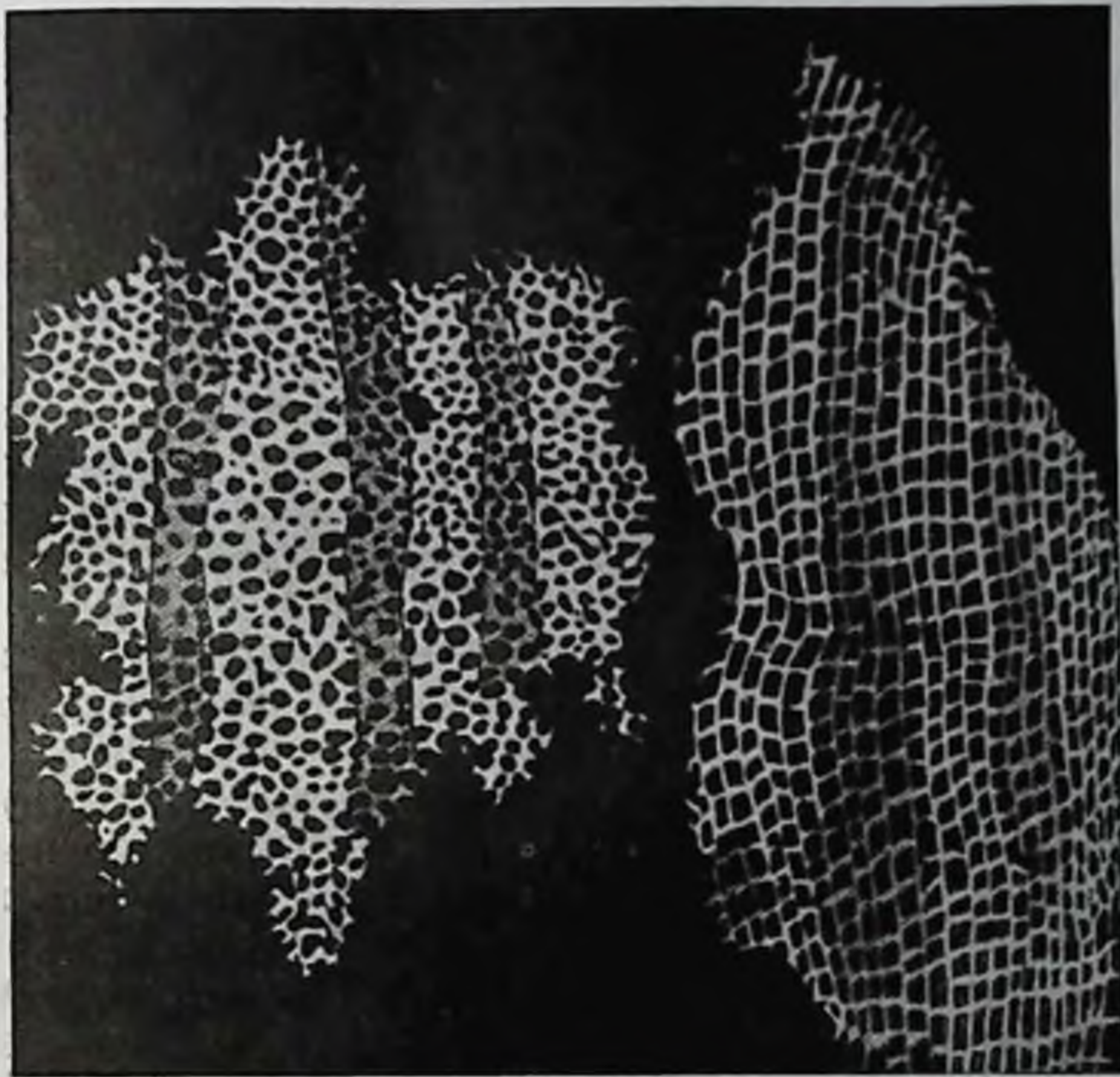


Рис. 1. Первое изображение клеток. Таблица среза пробки из «Микрографии» Гука (по Кацнельсону, 1963).

росли, актиномицеты и бактерии. Но, несмотря на ряд общих особенностей, нельзя забывать и о принципиальных различиях между ними и тканевыми клетками.

Представление о гомологии протистов с тканевыми клетками нашло отражение в распространенном термине «одноклеточные». Хотя протисты (особенно низшие) имеют близкую к клетке морфологическую организацию, отождествлять их трудно. Тканевые клетки являются частью многоклеточного организма, а протисты — целые организмы, которые, в отличие от изолированных клеток, обладают способностью поддерживать самостоятельное существование в изменяющихся условиях внешней среды. В строении и функциях протистов сочетаются клеточные и организменные черты, поэтому их рассматривают как организмы на клеточном уровне

развития, т. е. как клетки-организмы (Ю. И. Полянский, 1965). Особенно сложна интерпретация природы высших форм протистов, у которых наиболее развиты именно организменные черты. Морфологически они выражаются в формировании структур, напоминающих больше органы многоклеточных животных (например, эндоплазматический мешок, ротовой аппарат, сократительная вакуоль и др.), чем органоиды тканевых клеток. Функционально организменность протистов выражается в сильно развитой способности к самостоятельному существованию и в особенностях жизненного цикла с чередованием бесполого размножения и полового процесса, не свойственного тканевым клеткам. Согласно гипотезе А. А. Заварзина (1945) о неколониальном происхождении многоклеточности, филогенетически простейшие и многоклеточные — это различные организмы, возникшие одновременно из «первобытного живого вещества» как самостоятельные ветви эволюции. Вероятно, простейших следует рассматривать как особую форму организации живой материи, сочетающую клеточные и организменные особенности.

Такой же особой линией развития являются, по-видимому, бактерии, синезеленые водоросли и актиномицеты. Они также имеют многие общеклеточные черты. Но, с другой стороны, у всех представителей этой группы отсутствует ряд цитоплазматических органоидов и типичное клеточное ядро (М. А. Пешков, 1965). Они не имеют ядерной оболочки и ядрышка, хотя их «нуклеоиды» и содержат ДНК.

Несмотря на то что в решении цитологических проблем (генетический контроль за синтезом белка) изучение вирусов сыграло большую роль, сами они не являются объектом цитологии. Как бы ни решался вопрос об их природе («вещество или существо?»), не вызывает сомнений, что вирусы имеют принципиально отличную от клетки организацию. Они не обладают ни морфологическими (дифференцировка на ядро и цитоплазму), ни биохимическими (отсутствие основных ферментов, обеспечивающих самостоятельный метаболизм) особенностями клеточной организации.

Всеобъемлющий характер цитологии, разносторонность задач и многообразие методов исследований привели к дифференциации в ней специальных направлений. Основными из них являются цитоморфология, цитофизиология, цитохимия и цитогенетика. Поразительные успехи каждого из этих направлений связаны прежде всего с развитием новых методов исследований, позволивших глубже проникнуть в особенности структуры, функции и химизма клетки. Кратко рассмотрим особенности и основные методы этих направлений.

I. Цитоморфология, изучающая особенности структурной организации клетки и ее компонентов, по-прежнему остается

основным направлением исследования клетки, так как без прочного морфологического фундамента невозможен ни физиологический, ни химический аспект анализа жизнедеятельности клетки. Принцип взаимообусловленности структуры и функции является основой любого серьезного цитологического исследования. Пренебрежение цитоморфологией неизбежно приводит к заблуждениям.

По-прежнему не утрачивает значения для изучения строения клетки постоянный спутник цитолога — световой микроскоп (Appelt, 1955; Г. И. Роскин, Л. Б. Левинсон, 1957, и др.)¹. В ряде случаев световая микроскопия служит необходимым дополнением к самым современным приборам, обладающим значительно более высокой разрешающей способностью. Однако успехи цитоморфологии последних двух десятилетий связаны прежде всего с развитием электронной микроскопии (см. руководства по электронномикроскопической технике — В. И. Бирюзова и др., 1963; Л. С. Гольдин, 1963; Д. Пиз, 1963). Создание электронной микроскопии, повысившей разрешающую способность микроскопа практически в 100 раз и более, подводит современную цитоморфологию на границы к новому направлению — к молекулярной морфологии.

Электронная микроскопия значительно расширила горизонты нашего зрения. Важнейшие компоненты клетки, которые раньше представлялись бесструктурными образованиями, предстали теперь перед нами в виде сложно организованных структур. Митохондрии, например, которые с конца XIX столетия описывались в виде бесструктурных палочек или гранул, оказались построенными из сложной системы мембран, образующих внутренние перегородки (см. главу III). Полностью были пересмотрены представления о «внутриклеточном сетчатом аппарате» Гольджи, который предстал в виде комплекса мембран, вакуолей и микропузырьков (см. главу IV). Электронная микроскопия дала возможность не только уточнить организацию известных ранее органоидов, но и обнаружить совершенно новые структуры. Ни одна современная работа по цитологии, секрети и синтезу белков теперь не обходится без рассмотрения субмикроскопических структур — эндоплазматической сети и рибосом (см. главу V), существование которых классической цитологией даже не предполагалось. Электронная микроскопия позволила, наконец, обнаружить, что в основе организации ряда внутриклеточных компонентов лежит общий структурный компонент — элементарная трехслойная мембрана.

¹ В сссылках дается литература, по которой можно более подробно познакомиться с соответствующими методами цитологического исследования.

Изучение этой мембраны позволяет представить себе ее макромолекулярную организацию.

В порыве увлечения новым методом исследователи часто забывают печальные уроки прошлого. Мы не гарантированы, что бич световой микроскопии — артефакт — не распространится и на электронную микроскопию. Симптомы этого можно видеть уже сейчас. Хорошо известен «артефакт сжатия», т. е. уплотнение отдельных компонентов клетки в результате обезвоживания и заливки в метакрилат. На миелиновой оболочке нерва было обнаружено, что расстояние между ее слоями после фиксации OsO_4 уменьшается до 120 Å, а после обработки растворителями липидов (спирт, ацетон) и заливки в метакрилат несколько увеличивается (140—150 Å), но не достигает естественных размеров (170—180 Å), которые были обнаружены при витальной микроскопии в поляризованном свете. Известны и другие артефакты, связанные с методами изготовления препаратов: разрывы и разбухание стенок растительной клетки. Можно надеяться, что артефакты электронной микроскопии будут постепенно раскрыты и так же, как и в световой микроскопии, мы научимся обходить эти рифы.

Электронная микроскопия имеет еще один недостаток. Необходимость рассматривать ультратонкие срезы в вакууме электронного микроскопа вынуждает цитолога изучать «трупы» клеток, которые предварительно фиксировались и заливались в уплотняющие среды. Попытки создания витальной электронной микроскопии путем введения в микроскоп газовой камеры, к сожалению, пока не выходят за пределы производственного эксперимента. Поэтому в цитоморфологических исследованиях существенным дополнением электронной микроскопии остается витальная световая микроскопия.

По мере повышения разрешающей способности (8—10 Å) электронной микроскопии цитоморфолог все больше и больше вторгается в область молекулярной морфологии, смыкая цитологию с биохимией. В эту область молекулярной организации клетки ведут и не прямые методы ультраструктурного анализа — поляризационная микроскопия и рентгеноструктурный анализ. Оба эти метода не дают возможности непосредственно видеть ультраструктуры, но полученные этим путем данные позволяют косвенно судить о внутримолекулярной организации структур, об ориентации в них молекул и расстоянии между ними (А. Фрей-Висслинг, 1950).

Поляризационная микроскопия (Барер, 1957) основана на различном преломлении поляризованного света разными компонентами клеток и тканей. В одних из них свет распространяется с одинаковой скоростью независимо от плоскости поляризации (изотропные структуры), в других

(анизотропные структуры) — скорость распространения поляризованного света зависит от направления его по длинной или поперечной оси структуры. Многие биологические объекты (например, миофибриллы, мерцательные реснички, нити веретена деления), характеризующиеся строгой молекулярной ориентацией, являются анизотропными и обладают свойством двойного лучепреломления. В поляризационном микроскопе падающий на такие структуры пучок плоскополяризованного света разлагается на два луча, поляризованных во взаимно перпендикулярных плоскостях. Один из этих лучей («обыкновенный») подчиняется обычным законам преломления света, тогда как другой («необыкновенный») проходит через анизотропные структуры, запаздывая относительно обыкновенного луча. Таким образом, по выходе из объекта оба луча оказываются в разных фазах. Этот сдвиг фаз (величина запаздывания одного луча относительно другого) измеряется в поляризационном микроскопе и служит мерилем двойного лучепреломления. Величина запаздывания одного луча относительно другого (Γ) определяется по показателям преломления (μ_e , μ_o) обоих лучей и толщине объекта (l) по формуле: $\Gamma = (\mu_e - \mu_o) \cdot l$ (в миллимикронах или долях длины волны).

Если показатель преломления вдоль структуры больше, чем в поперечном направлении, то говорят о положительном двойном лучепреломлении, при обратных отношениях — об отрицательном двойном лучепреломлении. Отдельные структуры (миофибриллы, нити веретена деления), в которых связи между молекулами характеризуются асимметричным расположением, обладают собственным (кристаллическим) двулучепреломлением. Другим видом двойного лучепреломления является структурное двойное преломление, возникающее в связи с расположением асимметричных субмикроскопических частиц в среде с иным показателем преломления.

Структуры клетки, образованные ориентированными белковыми молекулами (например, волокна), обладают собственным положительным двойным лучепреломлением. Элементарные внутриклеточные мембраны (см. главу III), построенные из липидных молекул, которые расположены перпендикулярно белковым молекулам, имеют собственное положительное двойное лучепреломление, которое после экстракции липидов становится отрицательным. Отрицательным двойным лучепреломлением обладают также нуклеопротеидные нити. Характер лучепреломления поляризованного света, величина анизотропии в сочетании с изменением этих оптических показателей после экстракции жирорастворителями в известной степени позволяют судить о молекулярной организации структуры.

Метод рентгеноструктурного анализа позволяет определить не только ориентацию молекул, но и расстояние между ними. Этот метод основан на дифракции рентгеновых лучей, которая возникает при встрече излучения с молекулами, образующими в веществе пространственную решетку. При рентгеноструктурном анализе параллельный пучок рентгеновых лучей пропускают через объект, а картину дифракции регистрируют на фотопластинке, расположенной за объектом (Г. Остер, 1957). На фотопластинке обнаруживают ряд концентрически расположенных колец, дуг (при неориентированной молекулярной структуре), пятен или точек (при правильной ориентировке частиц). По ширине дуг и их расположению рассчитывают размеры частиц и расстояния между ними.

Рентгеноструктурный анализ пока сравнительно мало используется в цитологии. Однако уже теперь этим методом получен ряд интересных данных. Наиболее значительные успехи были достигнуты при изучении структуры белков и нуклеиновых кислот. Ставшая классической схема строения дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), предложенная Уотсоном и Криком (см. главу I), была построена на основе рентгеноструктурного анализа.

Как бы глубоко мы ни проникали в структурную организацию клетки, какие бы совершенные способы исследования ни создавали, основной задачей цитоморфологии остается изучение живой клетки. Поэтому существенным дополнением к ультраструктурным методам исследования всегда является витальная микроскопия, даже если она еще не дает такого высокого разрешения. Прижизненная микроскопия позволяет не только избежать артефактов, но и исследовать динамику клеточных структур.

Для изучения коллоидных свойств цитоплазмы широко используется темнопольный конденсор. Благодаря освещению клетки в темнопольном конденсоре боковыми лучами (принцип, основанный на «феномене Тиндаля») внутриклеточные структуры, даже мало отличающиеся по показателю преломления, становятся четко различимыми вследствие разного свечения на общем темном поле.

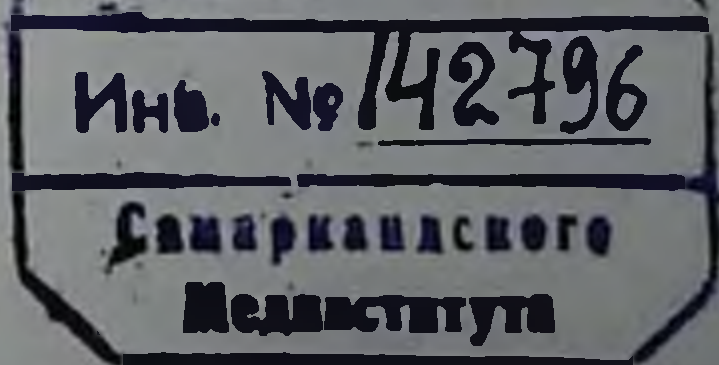
Очень удобным методом изучения живых клеток является фазово-контрастная микроскопия. Фазово-контрастное устройство дает в светлом поле зрения контрастное изображение клеток и их компонентов. Сущность метода заключается в том, что фазовые смещения световых волн, образовавшиеся при прохождении через внутриклеточные структуры, превращаются фазово-контрастным объективом в световые колебания разной амплитуды, которые воспринимаются глазом как различия освещенности (Г. А. Иоффе,

1955). Фазовоконтрастная микроскопия сыграла большую роль в изучении клетки. Достаточно напомнить, что многолетняя дискуссия о реальности комплекса Гольджи (см. главу IV) завершилась благодаря фазовоконтрастной и электронной микроскопии. Наиболее интересные результаты дает сочетание фазовоконтрастной микроскопии с микрокино съемкой.

Большие преимущества для изучения живой клетки дает люминесцентная микроскопия. Люминесценция (или флюоресценция) — свечение структур, возбуждаемое световой энергией. Так как излучение объекта всегда является более длинноволновым, чем возбуждающий свет, то для люминесцентной микроскопии используют обычно ультрафиолетовые лучи (300—400 мμ) или сине-фиолетовую часть видимого света (см. В. М. Бергольц, 1953; М. Н. Мейсель, 1955; Ю. Н. Зубжицкий, 1964). Клетки и ткани в люминесцентном микроскопе на общем темном фоне выглядят различно окрашенными по цвету и по интенсивности свечения. Ряд внутриклеточных образований (например, включения витаминов А и В₂, липидов, пигмента порфирина) обладает собственной (первичной) люминесценцией без дополнительной обработки. Другие компоненты клетки, не обладающие этим свойством, также могут давать различную люминесценцию после предварительной окраски (вторичная люминесценция) люминесцентными красителями — флюорохромами (акридин оранжевый, флюоресцеин, флоксин и др.).

Благодаря получению цветного изображения и высокой степени контрастности люминесцентная микроскопия является хорошим способом изучения живой клетки. Этот метод важен также для цитохимических исследований. Вторичная люминесценция с акридином оранжевым наряду с классическими методами окраски фиксированного препарата (реакция Фельгена, окраска по Унна — Браше) стала одним из основных способов изучения локализации ДНК и РНК в клетке. Этот прием нашел широкое применение в цитодиагностике опухолей.

II. Цитофизиология изучает функции клетки и ее компонентов. В центре внимания цитофизиолога находятся процессы движения клетки, ее защитные реакции, питание, секреция, выделение, накопление различных веществ, проницаемость, возбуждение клетки, ее репродукция, реакции на внешние воздействия. Особый интерес представляют функции внутриклеточных структур и внутриклеточные регуляции этих функций. Много внимания уделяется изучению влияния целого организма на деятельность отдельных клеток и на регуляцию организмом ~~важнейших~~ процессов.



Для цитофизиологии основным методом исследования является экспериментальный метод. Наиболее удобным объектом цитологических экспериментов служит культура ткани вне организма (А. В. Румянцев, 1932; М. И. Леви, 1957; О. Г. Анджапаридзе и др., 1962; Д. Ж. Пол, 1963). Этот метод, предложенный Гаррисоном (1907), а позже Карелом (1912), заключается в том, что кусочки ткани помещают в питательную среду (плазма крови и эмбриональный экстракт) на покровном стекле, которое монтируют над специальным предметным стеклом с лункой (метод «висячей капли»). Клетки растут по поверхности сгустка плазмы, образуя по периферии эксплантата зону роста. В последние годы были созданы синтетические питательные среды для культуры ткани и разработан метод однослойных тканевых культур. При этом клетки культивируют в пробирках, на дно которых помещают кусочек покровного стекла. Клетки, осевшие на покровное стекло, используют для морфологических исследований. Для культуры ткани применяют либо стандартные перевиваемые штаммы (фибробласты и амниотические клетки человека; клетки, полученные из опухолей HeLa, Нер-2 и др.), либо из ткани выделяют клетки путем предварительной трипсинизации и клеточную суспензию помещают в пробирку с питательной средой (первичная культура). При работе с клетками вне организма всегда необходимо учитывать, что искусственные условия культуры ткани не соответствуют условиям целого организма (выключение нейро-гуморальных регуляций, возможное изменение реактивности клеток). Однако как модель для изучения отдельных внутриклеточных процессов культура ткани — незаменимый метод, хотя и требует проверки полученных данных на тканевых клетках организма.

Для изучения динамики клетки и процессов, протекающих в ней (например, фагоцитоз, движение, деление и др.), служит микрокиносъемка (А. Т. Кравченко и др., 1963). Используя цейтраферное устройство, производят замедленную (при медленно протекающих изменениях) или ускоренную (при быстро протекающих процессах) съемку и просматривают фильм с обычной частотой (24 кадра в секунду). Метод цейтраферной киносъемки — не только способ документации, но прежде всего хороший метод исследования динамики процессов в живых клетках.

Как и в физиологии, в цитофизиологических экспериментах широко используют инъекции различных веществ в клетку, удаление или пересадку отдельных ее структур. Этим целям служит микрохирurgia (микроманипуляции). Операции на клетке осуществляются при помощи специального прибора — микрохирурга (П. Фонбрюн,

1951). С помощью этого прибора можно удалять части клетки, вводить микропипеткой различные вещества, пересаживать части одной клетки в другую, измерять (микроэлектроды) электрические потенциалы и т. д. В современных микроманипуляторах движения рук хирурга передаются пневматическими устройствами на микроинструменты. Микрургия (например, эксперименты с трансплантацией ядер) дала много важных сведений для решения таких проблем, как взаимоотношение ядра и цитоплазмы, генетические функции ядра и ряд других вопросов. В последние годы в микрургии механический микроманипулятор начинает вытесняться другим способом операций на клетке, предложенным еще в 1912 г. С. С. Чахотиным. Он разработал метод локального повреждения клетки с помощью узкого (2—3 μ) пучка ультрафиолетовых лучей (С. С. Чахотин, 1959; А. П. Дубров, 1962). Применение метода лучевого микроукола позволило выяснить, например, роль ядрышка в цитоплазматическом синтезе белка, роль кинетохора в движении хромосом во время митоза.

III. Цитохимия изучает локализацию химических веществ в клетке, обменные процессы клетки и химические изменения, которые лежат в основе ее функций. Цитохимические исследования не только позволяют выявить картину химической топографии клетки, но и раскрыть ряд особенностей химической динамики клетки и ее отдельных компонентов (Ж. Браше, 1960). Для изучения химических особенностей клетки существуют четыре пути.

1. Методы визуальной цитохимии заключаются в реакциях между веществом клетки и определенными химическими реактивами, причем в результате такой реакции возникает микроскопически видимый продукт реакции (обычно окрашенный). Интенсивность и локализацию продукта реакции определяют визуально при микроскопическом исследовании препарата. В настоящее время мы располагаем большим количеством различных цито- и гистохимических реакций (Э. Пирс, 1962), которые позволяют выявлять белки и аминокислоты, углеводы, липиды и нуклеиновые кислоты и некоторые ферменты. Цитохимические реакции большей частью являются модификациями реакций аналитической химии. Однако в отличие от последних, кроме специфичности, к гистохимическим реакциям предъявляется ряд дополнительных требований: а) появление в результате реакции хорошо видимого осадка или яркого и специфического окрашивания, которое можно различить на тонких срезах под микроскопом; б) точное расположение продукта реакции в месте локализации изучаемого вещества (не диффундирующий продукт реакции); предотвращение диффузии

изучаемого вещества после взятия материала частично достигается использованием для фиксации лиофильной сушки (быстрое замораживание при температуре около -160° с последующим высушиванием в вакууме) и метода замещения в замороженном состоянии (фиксация замороженной ткани охлажденным этанолом); для этой же цели при резке применяют нож глубокого охлаждения и криостат; в) более высокая чувствительность цитохимической реакции, так как количество веществ, которые изучают в клетке, обычно очень невелико; г) химическая реакция не должна разрушать структуры клетки; в связи с этим не применимы многие реакции аналитической химии, требующие использования концентрированных кислот, щелочей или нагревания до высокой температуры.

Обязательным условием цитохимических исследований является проведение контрольных реакций (удаление, блокирование вещества или его активных групп в клетке, либо исключение субстрата из инкубационной среды при определении ферментов). Жесткие условия, которые предъявляют к цитохимическим реакциям, суживают диапазоны визуальной цитохимии.

В последние годы методы визуальной цитохимии стали сочетать с электронной микроскопией. Электронная цитохимия позволяет локализовать химические вещества на отдельных ультраструктурах клетки. Круг реакций электронной цитохимии еще более ограничен, так как в результате реакции обязательно должен образоваться продукт, сильно поглощающий электроны. В настоящее время разработаны такие реакции для определения нуклеиновых кислот, сукцинатдегидрогеназы, диафораз, аденозинтрифосфатазы, кислот и щелочной фосфатаз, холинэстеразы и гликогена.

Однако все методы визуальной цитохимии дают лишь качественную характеристику химических особенностей клетки. Современный уровень развития цитологии настойчиво требует перехода на точные, объективные количественные показатели химической статики и динамики клетки. Оценка химических изменений в клетке «на глазок» постепенно уходит в прошлое. Количественные цитохимические исследования осуществляются физическими методами изучения химического состава и сочетанием их с визуальной цитохимией.

2. Физические методы цитохимии основаны на характерном спектре поглощения некоторых веществ в видимом, ультрафиолетовом или инфракрасном свете и на зависимости поглощения света от концентрации вещества. Количественный абсорбционный анализ (цитофотометрия) в видимой части света позволяет выразить в количе-

ственных показателях различия в интенсивности естественной или искусственной окраски и различных цитохимических реакций (см. А. Поллистер, Л. Орнштейн, 1957). Принцип метода основан на том, что интенсивность поглощения лучей пропорциональна концентрации вещества при одной и той же толщине объекта (закон Ламберта — Бера). Прибор для цитофотометрии состоит из источника света, фильтра, микроскопа и фотометра с фотоумножителем, на который проецируется изображение клетки. Определяют интенсивность пропускания света через клетку или обратную величину — оптическую плотность (экстинкцию) и эти показатели сравнивают со стандартными образцами или с другими клетками.

Для этих же целей широко применяют ультрафиолетовую микроскопию с цитофотометрией (Е. М. Брумберг, 1955; В. Я. Бродский, 1956; И. М. Лимаренко, 1954). Ультрафиолетовая микроскопия наряду с увеличением разрешающей способности микроскопа (0,1 μ) открывает широкие возможности для химических исследований клетки. В ультрафиолетовой области сосредоточены полосы сильного поглощения ультрафиолетовых лучей ряда веществ, прозрачных в видимом свете. Так, нуклеиновые кислоты избирательно поглощают лучи с длиной волны 260 μ , циклические аминокислоты (триптофан, тирозин) поглощают лучи с длиной волны 270—295 μ , ациклические аминокислоты — с длиной волны 220—230 μ . Наличие избирательного поглощения ультрафиолетовых лучей позволяет, микроскопируя при разной длине волны, выделять такие вещества и детали, которые теряются в видимом свете в связи с близостью их показателей преломления к показателю преломления среды. Сочетание ультрафиолетовой микроскопии с цитофотометрией позволяет также вести количественный анализ.

Е. М. Брумбергом были предложены два способа ультрафиолетовой микроскопии: визуальный и фотографический. При первом из них в плоскость изображения препарата помещают флюоресцирующий экран, цвет флюоресценции которого зависит от длины волны. При втором способе цветовая трансформация изображения достигается таким образом, что с одного места препарата делают три снимка при разной длине волны ультрафиолетовых лучей, а позитивы рассматривают в хромоскопе, в котором снимки освещаются красным, зеленым и синим светом. Хромоскоп сводит три изображения в одно цветное.

Так как достаточно сильное поглощение ультрафиолетовых лучей дает сравнительно ограниченный круг биологических веществ (нуклеиновые кислоты, некоторые аминокислоты), то дальнейшее развитие этого метода заключается в

сочетании ультрафиолетовой микроскопии с визуальными цитохимическими реакциями, которые изменяют характер поглощения ультрафиолетовых лучей изучаемых веществ.

Для целей цитохимического анализа применяют также рассмотренную выше люминесцентную микроскопию. Использование флюорохромов позволяет изучать распределение в клетке белков, липидов, мукополисахаридов и нуклеиновых кислот. Особенно широкое распространение для целей цитохимии люминесцентная микроскопия получила после разработки метода Кунса, который применил для выявления антигенов в клетках антитела, меченные изоцианатом флюоресцеина. Сочетание иммунобиологических реакций с люминесцентной микроскопией позволяет глубже проникнуть в белковый обмен клетки. Этим путем было обнаружено, что белковые молекулы, идущие на построение веретена деления, предсуществуют в интерфазной клетке. При помощи метода флюоресцирующих белков была показана локализация миозина в дисках А миофибриллы и наличие адренокортикотропного гормона в базофильных клетках гипофиза, а также удалось выяснить ряд других интересных цитохимических особенностей разных клеток.

Количество различных веществ в клетке относится обычно на ее объем или на сухой вес. Определение массы сухого вещества клетки производится с помощью интерференционной микроскопии, допускающей точность определения до $0,5 \cdot 10^{-12}$ г. Интерференционная микроскопия основана на том же принципе, что и фазовоконтрастная микроскопия. В интерференционном микроскопе на изображение клетки накладывается дополнительная световая волна. Это осуществляется таким образом, что световой пучок, который прошел через объект и получил поэтому некоторые изменения в фазе, встречается с другим световым пучком от того же источника, который прошел мимо объекта (эталонный пучок), и имеет первоначальную фазу. При встрече происходит интерференция этих пучков и возникает интерференционное изображение объекта. Сдвиг фазы одного пучка относительно другого измеряют вращающимся анализатором и по этим данным определяют разность показателей преломления объекта и среды, а затем рассчитывают сухой вес объекта.

3. Одним из наиболее важных и доступных методов цитохимии является автордиография (Л. Н. Жинкин, 1959), основанная на применении радиоактивных изотопов с α -, β - или γ -излучением, которое обладает способностью восстанавливать бромистое серебро фотоэмульсии. После введения в клетку изотопа препарат покрывают фотоэмульсией и через некоторое время проявляют эмульсию обычным

способом. Сравнивая засвеченные участки эмульсии (автограф) с соответствующими областями клетки, можно точно локализовать места включения изотопа. Для биологических исследований применяют обычно изотопы, дающие β -излучения (C^{14} , P^{32} и др.). В последние годы наиболее широкое распространение в авторадиографии получили соединения, меченные тритием (H^3). β -частицы, возникающие при распаде трития, обладают значительно меньшей энергией, чем излучения меченого углерода или фосфора, и поэтому разрешающая способность таких автографов наиболее высокая (Л. Н. Жинкин, А. А. Заварзин, А. К. Дондуа, 1960). Особенно интересные данные были получены этим путем при изучении нуклеинового обмена клетки. Использование меченого предшественника ДНК (H^3 -тимидина) позволило проследить репликацию хромосом (см. главу X). Сочетание авторадиографии с электронной микроскопией (электронная авторадиография) открыло путь к изучению химической динамики ультраструктур клетки. Особого внимания заслуживают полученные этим методом данные о синтезе ферментов в процессе секреции (см. главу V). Авторадиография вообще служит незаменимым методом для изучения локализации биохимических процессов, протекающих в клетке и ее отдельных компонентах.

4. Для изучения химических изменений клетки часто пользуются обычными биохимическими или микрохимическими методами. Но для осуществления таких исследований органы предварительно разрушают (гомогенизируют), а затем их гомогенат подвергают фракционированию. Последнее осуществляется путем дифференциального центрифугирования (Д. Хогебум, В. Шнейдер, 1957). Центрифугируя гомогенат разное время при различном числе оборотов, последовательно выделяют сначала более тяжелые, а затем при повторном центрифугировании более легкие компоненты клетки. Таким образом удается выделить разные компоненты клетки: ядро, ядрышко, митохондрии, комплекс Гольджи и другие внутриклеточные структуры. Возможность получения большого количества материала и применимость апробированных биохимических методов исследования привели к тому, что фракционирование клетки стало одним из основных способов изучения химических особенностей клетки. Несмотря на то, что таким путем уже получены важные биохимические факты, лежащие в основе многих современных цитологических представлений, оценка этих данных требует осторожности, так как метод фракционирования не свободен от ряда существенных недостатков: а) при разрушении клетки неизбежны морфологические и биохимические артефакты, связанные с самим процессом

разрушения и явлениями автолиза; б) так как гомогенизации подвергается обычно целый орган или его часть, то анализируется одновременно разнородная группа клеток, а результат относят к некоей «средней клетке»; в) не всегда удается выделить чистые фракции; г) при фракционировании неизбежно происходит разобщение ферментов и субстратов и, таким образом, изменяется активность ферментативных процессов. Число подобных соображений можно было бы увеличить, но и сказанного уже достаточно для обоснования осторожной оценки результатов фракционирования клетки и вывода о необходимости контроля этого приема исследования другими методами цитохимии.

IV. Цитогенетика — один из разделов цитологии, развивающейся на стыке цитологии с генетикой. Это направление исследований посвящено изучению цитологических основ наследственности и изменчивости. Основным объектом цитогенетических исследований является хромосома, ее морфология, биохимия и физиология (см. главу X). По мере изучения химических особенностей хромосомы цитогенетика постепенно смыкается с молекулярной генетикой, изучающей синтез и репликацию ДНК, молекулярные механизмы ее генетической функции, а также генетический контроль за синтезом белка.

Кроме основных направлений цитологии, кратко охарактеризованных выше, можно отметить еще ряд других направлений, посвященных разработке частных проблем этой дисциплины, например радиационную цитологию (Н. П. Дубинин, 1961), цитоэкологию (см. В. Я. Александров, 1963; Б. П. Ушаков, 1963, и др.).

Дифференциация цитологии на обособленные направления, обусловленная емкостью и спецификой методов каждого из этих разделов, таит в себе односторонность и перспективу накопления необобщенных фактов. Поэтому представляется, что дальнейшее развитие этой науки лежит на пути развития «синтетической цитологии» (Д. Н. Насонов), т. е. комплексного исследования клетки представителями разных направлений. Необходимость усилий представителей разных специальностей в решении одного из основных вопросов цитологии можно иллюстрировать множеством примеров. Один из них относится к изучению двух компонентов клетки — митохондрий и «микросом». Еще сравнительно недавно, несмотря на то, что структура митохондрий была относительно хорошо известна, существовали самые фантастические представления о функции этих образований (превращение их в секреторные гранулы, в метаплазматические образования, симбионты клетки). Только после того, как биохимиками был изучен химический состав этого орга-

ноида, стала понятна роль митохондрий как энергетических станций клетки. Наконец, методы электронной цитохимии позволили локализовать различные ферменты на ультраструктурах митохондрий и, таким образом, положили начало изучению молекулярных механизмов деятельности этих образований. Однако и односторонних биохимических исследований также недостаточно для решения сложных цитологических вопросов. Следует напомнить историю изучения «микросом» (см. главу VII), которые, несмотря на многолетние исследования методом фракционирования клетки, оказались при тщательной морфологической проверке не самостоятельными структурами клетки, а обрывками других ее компонентов. Эта история позволяет повторить слова одного из крупнейших электронных микроскопистов Шестранда: «Если биохимик действительно хочет сохранить связь с морфологическими фактами и не разрабатывать свою собственную морфологию продуктов разрушения, он должен работать в тесном контакте с опытным специалистом по электронной микроскопии».

Итак, комплексная цитология, всесторонне рассматривающая основные проявления жизни клетки, должна разрабатываться содружественными усилиями исследователей разного профиля: цитоморфологами, цитохимиками и физиками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководства, сборники и обзоры по общим вопросам цитологии

- Александров В. Я. Труды Ботанического института имени Комарова АН СССР, 1963, сер. IV, в. 16, 234—280.
- Александров В. Я., Полянский Ю. И. Некоторые вопросы современной цитологии. В кн.: Вопросы цитологии и общей физиологии. 1960, стр. 2—31.
- Браше Ж. Биохимическая цитология. ИЛ, 1960.
- Вильсон Э. Клетка. Т. 1. 1936; т. 2, 1940.
- Вопросы электронной микроскопии тканей. ИЛ, 1959.
- Данжар П. Цитология растений и общая цитология. ИЛ, 1950.
- Дубинин Н. П. Проблемы радиационной генетики. М., 1961.
- Живая клетка. ИЛ, 1962.
- Кацнельсон З. С. Клеточная теория в ее историческом развитии. Л., 1963.
- Кедровский Б. В. Цитология белковых синтезов в живой клетке. Изд. АН СССР, 1959.
- Макаров П. В. Физико-химические свойства клеток и методы их изучения. ЛГУ, 1948.
- Мейсель М. Н. Функциональная морфология дрожжевых организмов. Изд. АН СССР, 1950.
- Молекулярная биология. ИЛ, 1963.
- Молекулярная генетика. «Мир», 1964.
- Насонов Д. Н. Некоторые вопросы морфологии и физиологии клетки. Избранные труды. Изд. АН СССР, 1963.

- Насонов Д. Н., Александров В. Я. О реакции живого вещества на внешние воздействия. Изд. АН СССР, 1940.
- Пешков М. А. Сравнительная цитология представителей Schizophyta — синезеленых водорослей, бактерий и актиномицетов. В кн.: Руководство по цитологии. Т. 1. «Наука», 1965, стр. 345—361.
- Полянский Ю. И. Особенности организации простейших как клеточных организмов. В кн.: «Руководство по цитологии». Т. 1. «Наука», 1965, стр. 409—438.
- Поликар А., Бо Ш. Субмикроскопические структуры клеток и тканей в норме и патологии. М., 1962.
- Проблемы цитофизиологии. ИЛ, 1957.
- Регуляция клеточного обмена. ИЛ, 1962.
- Регуляторные механизмы клетки. «Мир», 1964.
- Руководство по цитологии. Т. 1. «Наука», 1965.
- Робертис Е., Новинский В., Саэс Ф. Общая цитология. ИЛ, 1962.
- Соболь С. Л. История микроскопа и микроскопических исследований в России в XVIII веке. Изд. АН СССР, 1949.
- Структура и функции клетки. «Мир», 1964.
- Структурные компоненты клетки. ИЛ, 1962.
- Ушаков Б. П. Изменение теплоустойчивости клеток в онтогенезе и проблема консервативности клеток высших холоднокровных животных. Проблемы цитоэкологии животных. М.—Л., 1963, 6, 21—42.
- Фрей-Висслинг А. Субмикроскопическое строение протоплазмы и ее производных. ИЛ, 1950.
- Хлопин Н. Г. Общебиологические и экспериментальные основы гистологии. Изд. АМН СССР, 1946.
- Хрущов Г. К. Физические свойства живой клетки. М., 1930.
- The Cell (ed. J. Brachet, A. Mirsky) Acad. Press. New York—London, v. 1—6, 1959—1963.
- Rhodin J. A. C. An atlas of ultrastructure. Philadelphia, London, 1963.

II. Методика и техника исследований

- Анджапаридзе О. Г., Гаврилов В. И., Семенов Б. Ф., Степанова Л. Г. Культура ткани в вирусологических исследованиях. М., 1962.
- Барер Р. Фазовоконтрастная, интерференционноконтрастная и поляризационная микроскопия. В кн.: Методы цитологического анализа. ИЛ, 1957, стр. 109—178.
- Бергольц В. М. Люминесцентная микроскопия. М., 1953.
- Бирюзова В. И., Боровягин В. Л., Гилев В. П., Киселев Н. А., Тихоненко А. С., Ченцов Ю. С. Электронномикроскопические методы исследования биологических объектов. Изд. АН СССР, 1963.
- Бродский В. Я. Успехи совр. биол., 1956, 42, 1, 87—107.
- Брумберг Е. М. Микроскопия в ультрафиолетовых лучах. В кн.: Современные методы морфологического исследования. М., 1955, стр. 81—108.
- Гольдин Л. С. Основы гистологической техники электронной микроскопии. М., 1963.
- Дубров А. П. Биофизика, 1962, 5, 634—639.
- Жинкин Л. Н. (ред.). Радиоактивные индикаторы в гистологии. Труды Института экспериментальной медицины. Изд. АМН СССР, Л., 1959.
- Жинкин Л. Н., Заварзин А. А., Дондуа А. К. Цитология, 1960, 2, 6, 9—57.
- Зубжицкий Ю. Н. Методы люминесцентной микроскопии. «Медицина», 1964.

- Иоффе Г. А. Фазово-контрастная и интерференционная микроскопия. В кн.: Современные методы и техника морфологических исследований. М., 1955, стр. 63—72.
- Кравченко А. Т., Милютин В. Н., Гудима О. С. Микрокиносъемка в биологии. М., 1963.
- Левин М. И. Культура ткани в изучении полиомиелита. Ставрополь, 1957.
- Лимаренко И. М. Успехи совр. биол., 1954, 38, 2, 227—242.
- Мейсель М. Н. Люминесцентная микроскопия и ее применение в цитологии и гистофизиологии. В кн.: Современные методы и техника морфологических исследований. М., 1955, 73—80.
- Остер Г. Рентгеноструктурный анализ. В кн.: Методы цитологического анализа. ИЛ, 1957, стр. 350—364.
- Пиз Д. Гистологическая техника в электронной микроскопии. М., 1963.
- Пирс Э. Гистохимия. М., 1962.
- Пол Дж. Культура клеток и ткани. М., 1963.
- Поллистер А., Ориштейн Л. Цитофотометрический анализ в видимой части спектра. В кн.: Методы цитологического анализа. ИЛ, 1957, 9—57.
- Роскин Г. И., Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника. Изд. «Советская наука», 1957.
- Румянцев А. В. Культуры тканей вне организма. М., 1932.
- Фонбрюн П. Методы микроманипуляции. ИЛ, 1951.
- Хогбум Д., Шнейдер В. Цитоплазма. В кн.: Нуклеиновые кислоты. ИЛ, 1957, 102—141.
- Чохотин С. С. Цитология, 1959, 1, 6, 614—626.
- Appelt H. Einführung in die Mikroskopischen Untersuchungsmethoden. Leipzig, 1955.

ОБЩАЯ МОРФОЛОГИЯ КЛЕТКИ, ХИМИЧЕСКАЯ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТОПЛАЗМЫ

Общая морфология клетки

Клетка — это основная форма организации живой материи. Она лежит в основе строения, развития и жизнедеятельности всех многоклеточных организмов. Возникла клетка в ходе исторического развития (филогенеза) живой материи в результате дифференцировки неклеточной *протоплазмы* — основного субстрата жизни. Клетки состоят из двух основных частей: ядра и внеядерной протоплазмы — цитоплазмы¹. Ядро, или кариоплазма, отграничено от цитоплазмы оболочкой — кариомембраной; цитоплазма окружена так называемой плазматической оболочкой (см. главу VIII). Толщина плазматической оболочки около 0,01 м. т. е. находится за пределами разрешающей способности светового микроскопа и может быть изучена только с помощью электронного микроскопа.

В цитоплазме содержатся различные внутриклеточные структуры, которые обычно подразделяют на три группы: органоиды, включения и метаплазматические образования (или специальные органоиды).

¹ В некоторых работах цитоплазму в отличие от ядра неточно называют протоплазмой.

Органоиды — структуры, постоянно встречающиеся в клетках и принимающие участие в осуществлении их общих функций². К органоидам животной клетки относятся митохондрии, комплекс Гольджи, клеточный центр и эндоплазматическая сеть с рибосомами. Описанию этих органоидов посвящены отдельные главы. Органоиды растительной клетки, которую мы не рассматриваем, представлены митохондриями, комплексом Гольджи, пластидами, сферосомами, вакуолями; в некоторых растительных клетках имеется и клеточный центр.

Термин «органоиды» связан с сопоставлением этих компонентов клетки и органов в системе целого организма. Действительно, органоиды в клетке несут различные специальные функции, хотя специализация не доведена до строгой монополии одного органоида на определенную функцию. Ни одна функция клетки не является результатом деятельности одного определенного органоида. Любое проявление жизнедеятельности клетки — это следствие согласованной работы ее взаимосвязанных компонентов. Вместе с тем каждый органоид принимает участие в осуществлении различных функций клетки. Противопоставляя органоиды временным включениям клетки, их обычно рассматривают как постоянные компоненты клетки. Эту особенность органоидов надо понимать не в смысле их неизменяемости. В дальнейшем будет приведено много наблюдений, свидетельствующих об изменчивости и высокой лабильности органоидов. Говоря о них как о постоянных структурах клетки, имеют в виду, что они содержатся почти во всех клетках. Известны лишь отдельные исключения, когда тот или иной органоид отсутствует, не развит или вторично утрачен (например, отсутствие митохондрий в эритроцитах).

В последние годы был описан еще один компонент клетки — цитоплазматические микротрубочки. Сначала они были обнаружены в растительных клетках (Ledbetter, Porter, 1963), затем у протистов (Porter et al., 1964), в клетках гидры (Slautterback, 1963) и в разных клетках крысы (Sandborg et al., 1964; Behnke, 1964). Эти структуры имеют вид тонких не ветвящихся трубочек диаметром 180—260 Å; внутренний просвет — 100—120 Å, толщина ограничивающей их мембраны — 40—60 Å. Выявляются микротрубочки только при электронномикроскопических исследованиях после комбинированной фиксации глутаральдегидом и осмиевой кислотой. Функция и химические особенности микротрубочек не изучены. Им приписывают роль опорных структур, сократи-

² В отличие от специальных органоидов их иногда называют обще-клеточными органоидами.

тельных элементов цитоплазмы, или канальцев, по которым циркулирует жидкость. Большое морфологическое сходство микротрубочек и нитей митотического веретена (см. главу XI), а также связь обеих структур с сателлитами центриолей (de The, 1964) побуждают некоторых исследователей рассматривать микротрубочки как «предшественники» или остатки митотического аппарата в интерфазной клетке. Этим представлениям противоречит, однако, наличие микротрубочек в клетках, не способных к митозу (нейроны и их осевые отростки, скелетные мышечные волокна). Происхождение и функции микротрубочек остаются пока невыясненными.

Включения (или параплазматические образования) — временные образования клетки, которые появляются и исчезают в процессе обмена веществ. Они совершенно различны по своей химической природе и морфологическому выражению. К ним следует отнести секреторные гранулы, различные включения питательных веществ и продукты внутриклеточного обмена, которые накапливаются и расходуются клеткой в зависимости от ее физиологического состояния. Включения могут состоять из белка (в печеночных клетках, в эндосперме семян), жира (жировая ткань), углеводов (гликоген — в клетках животных, крахмал — в клетках растений).

Кроме органоидов и временных включений, в цитоплазме некоторых клеток имеются так называемые специальные органоиды, выполняющие в этих клетках частные функции, — *метаплазматические образования*. Это название отражает, с одной стороны, их цитоплазматическое происхождение, а с другой — отличный от цитоплазмы характер. К метаплазматическим образованиям относят тонофибриллы в клетках эпидермиса, несущие опорную функцию, миофибриллы мышечных клеток, выполняющие функцию сокращения, и кутикулу, имеющую защитную функцию.

В некоторых клетках наблюдается отчетливое дифференцирование цитоплазмы на более вязкий тонкий периферический слой, почти лишенный микроскопически видимых образований, — *эктоплазму*, и на остальную массу с органоидами и включениями — *эндоплазму*.

Всю цитоплазму без органоидов и каких бы то ни было включений называют *гиалоплазмой*, основной цитоплазмой, или цитоплазматической матрицей. Эта бесструктурная масса клетки также обладает свойствами живого. Однако полноценное протекание жизненных процессов невозможно без наличия структур. Единство процессов и структур в клетке создает основу для поддержания жизни, саморегуляции и развития. Структурная дифференцировка цитоплазмы и ядра клетки обеспечивает протекание всех

жизненных явлений. Основные черты тонкой структурной организации клетки, выявленные различными методами (световой, ультрафиолетовой, электронной микроскопией, ультрацентрифугированием и др.), приведены в виде схем на рис. 2 и 3.

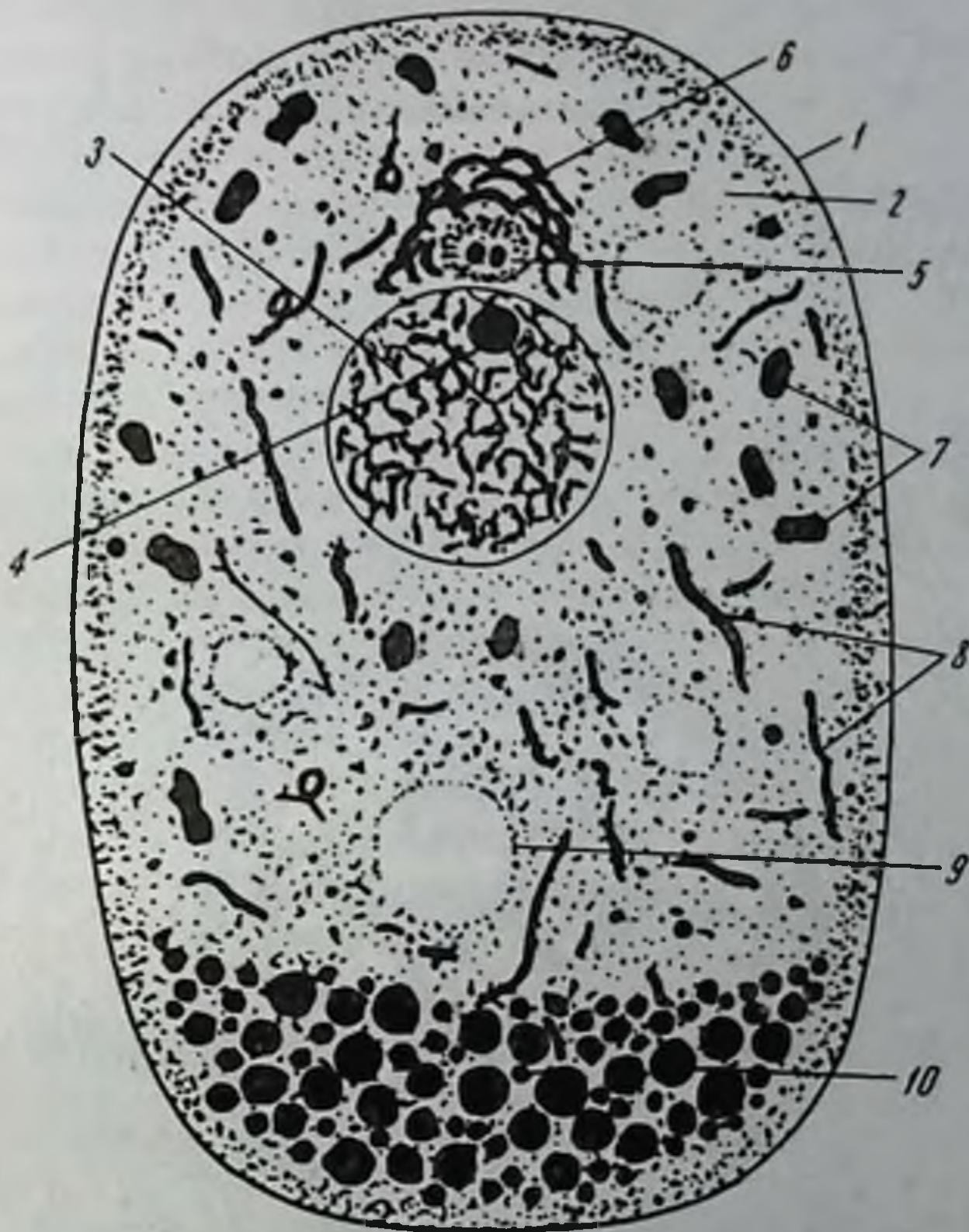


Рис. 2. Общая схема строения животной и растительной клетки на основании данных световой микроскопии (по Вильсону, 1936).

1 — плазматическая оболочка; 2 — цитоплазма; 3 — ядро; 4 — ядрышко; 5 — клеточный центр; 6 — комплекс Гольджи; 7 — пластиды; 8 — митохондрии; 9 — вакуоли; 10 — включения.

Размеры и форма клеток животного организма весьма различны. Большинство клеток микроскопических размеров. Наименьшими размерами обладают клетки-зерна мозжечка, диаметр которых около 4 μ , диаметр же некоторых гигантских клеток доходит до нескольких сантиметров — яйцеклетки птиц. Протяженность отростков нервных клеток может превышать 1,5 м.

Имеются клетки с изменчивой формой, как лейкоциты, и с постоянной формой, характерной для каждого данного ти-

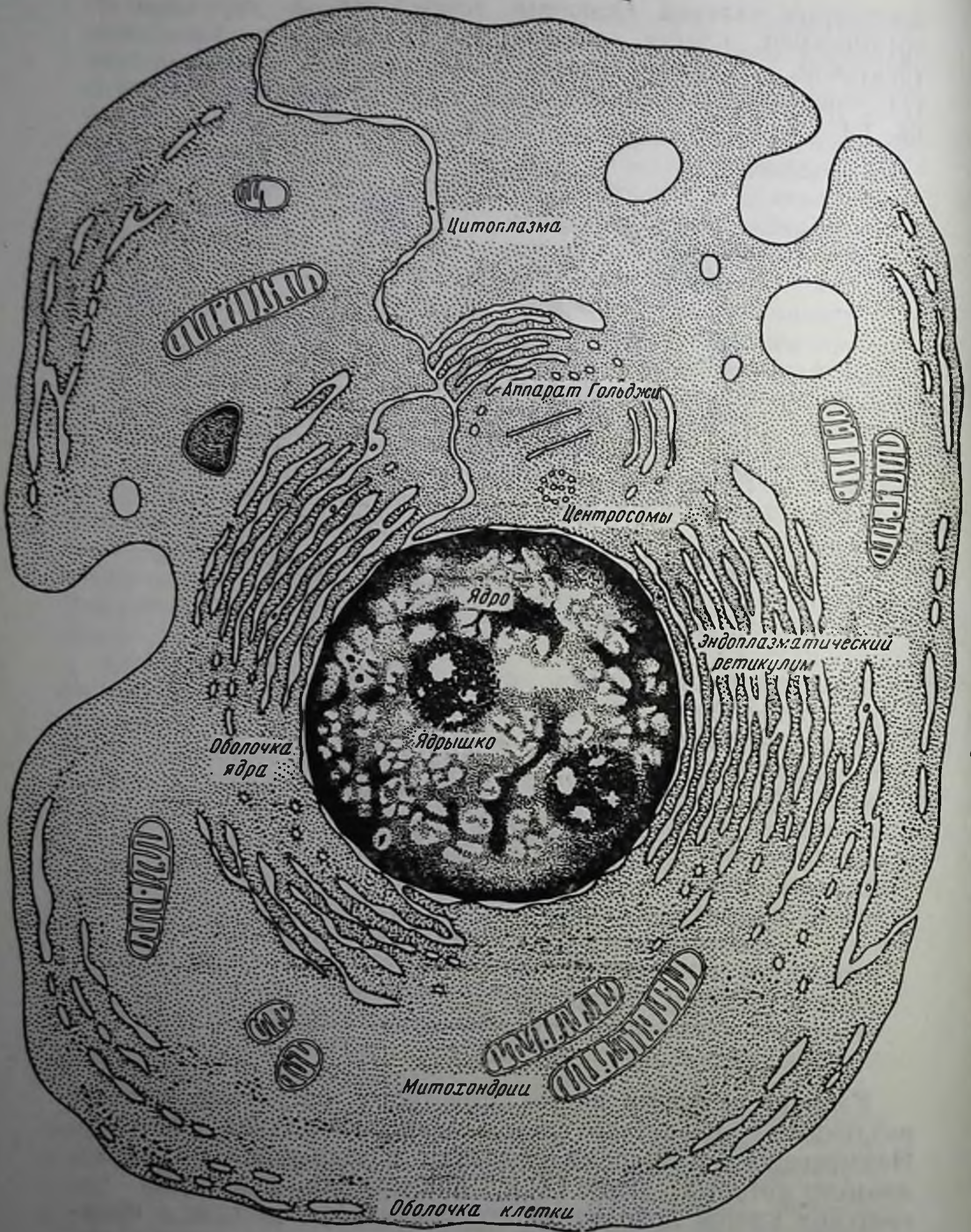


Рис. 3. Схема строения клетки по современным данным (многие детали открыты с помощью электронного микроскопа).

па клеток, обусловленной поверхностным натяжением, механическим воздействием соседних клеток, функциональными особенностями и другими факторами.

Клетки бывают шаровидные, овальные, кубические, призматические, цилиндрические, звездчатые, дисковидные. Большинство клеток одноядерные, но встречаются дву- и многоядерные клетки. В изометрических клетках ядра обычно шаровидные, в удлинённых — вытянутые. В ядрах имеется одно, два или несколько ядрышек.

Многоклеточный организм содержит колоссальное количество клеток. Достаточно сказать, что в больших полушариях головного мозга человека около 20 млрд. нервных клеток, в крови — около 25 биллионов эритроцитов.

Современная клеточная теория исходит из того, что клетка — главная форма организации живой материи, возникающая в ходе филогенеза из доклеточных форм жизни. Имеющиеся в организме неклеточные образования (например, волокнистые структуры межклеточного вещества) образуются в результате клеточной жизнедеятельности. Накопленные к настоящему времени данные по ультраструктуре клеток организмов, стоящих на разных уровнях филогенетического развития, свидетельствуют о сходстве отдельных цитологических структур, что связано с единством их происхождения и функционирования.

Химическая характеристика протоплазмы

Клетка — сложная морфолого-биохимическая система. Каждая клетка характеризуется определенным химическим составом и выполнением физиологических функций, осуществление которых связано с наличием ферментов и их субстратов, закономерно связанных с определенными внутриклеточными структурами. Однако в каждой клетке протекают процессы, общие для всего живого: ассимиляция и диссимиляция ряда веществ, биосинтез белка. Особенности химического состава и обмена веществ, характерные для какой-то одной ткани, накладываются на общие черты организации различных клеток.

В состав протоплазмы не входит ни один элемент, который не встречался бы в неживой природе, и, видимо, нет такого элемента, который не мог бы быть обнаружен в живом веществе тех или иных организмов. Жизненно необходимыми считаются: С, О, Н, N, К, Са, Mg, P, S и Fe, а для животных еще Na и Cl; в ряде организмов найдены Li, Ba, Sr.

Cu, Zn, Si, Fe, Cr, Br. Изучением химического состава организмов, выявлением в них редких и радиоактивных элементов занимался В. И. Вернадский, а продолжают разработку этой проблемы представители его школы.

Необходимо иметь в виду, что химический состав тканей и организма в целом может существенно отличаться от химического состава клеток, так как в них содержатся и неклеточные компоненты. Поэтому для исследования химического состава клеток хорошим объектом являются или отмытые естественные суспензии клеток (например, крови), или клетки, искусственно выделенные из ткани путем специальной обработки. Для выяснения внутриклеточной локализации химических веществ пользуются различными методами исследования: применяют как микроскопическое исследование, основанное или на специфическом поглощении части спектра химическими компонентами, или на специфическом их окрашивании, так и чисто химическое изучение изолированных клеточных компонентов. Очень важно сопоставление этих данных с данными электронной микроскопии. Наиболее точные сведения по химии морфологических образований клеток основаны на биохимическом изучении изолированных клеточных структур, полученных из гомогенатов разных тканей при их центрифугировании. Анализ выделенных фракций (ядерной, митохондриальной, микросомной и др.) дает представление о распределении в клетке различных химических веществ. Поскольку химический состав разных клеток неодинаков, трудно дать его общую характеристику. Тем не менее имеется ряд веществ, встречающихся во всех тканях: вода и различные неорганические вещества, белки, нуклеиновые кислоты, липиды, углеводы и множество различных низкомолекулярных органических соединений. Все эти вещества находятся во взаимодействии и представлены преимущественно в виде разнообразных комплексов, связанных с внутриклеточными структурными образованиями. В табл. I приводятся данные содержания в протоплазме различных веществ и относительного числа содержащихся в них молекул.

Из табл. I видно, что число белковых молекул в протоплазме минимально и что на каждую белковую молекулу приходится 18 000 молекул воды. Вода содержится в протоплазме в свободном и связанном состоянии. Свободная вода является растворителем неорганических ионов и других веществ, а также служит дисперсионной средой в протоплазме и принимает участие во многих ферментативных реакциях. Связанная вода образует часть структуры протоплазмы, она удерживается молекулами белка при помощи водородных связей (к радикалам, образующим в протоплазме

ме водородные связи, относятся гидроксил, карбоксил, кето-, амино-, сульфгидрильные группы и др.). Связанная вода входит также в диполи, составляющие сольватную оболочку коллоидных частиц. Для проблем клеточной физиологии и особенно для решения вопроса о распределении веществ

Таблица 1

Вещество	Процент от сырого веса	Средний молекулярный вес	Относительное число молекул
Вода	85	18	18 000
Белок	10	36 000	1
Липиды	2	700	10
Другие органические вещества	1,5	250	20
Неорганические вещества	1,5	55	100

между клеткой и средой имеет значение выяснение состояния воды в клетке. По этому поводу существуют две концепции; по одной из них, вода в основном находится в клетке в свободном состоянии (мембранная теория проницаемости), по второй — в связанном (фазовая теория распределения веществ).

Неорганические вещества содержатся в клетке в виде солей (обычно в диссоциированном состоянии) или в сочетании с органическими веществами. С помощью неорганических веществ поддерживается кислотно-щелочное равновесие, регулируется осмотическое давление. Различные неорганические вещества распределены неравномерно по тканям — дифференциальная концентрация, или осмотический градиент. Градиент наблюдается и в распределении отдельных веществ по отношению к клетке; так, ионы К и Mg сконцентрированы внутри клеток, а Na и Cl — преимущественно вне клетки. Большое биологическое значение имеют в организме фосфаты и сера. Большая часть фосфатов связана с органическими соединениями, где фосфоэфирные связи служат важным источником энергии; сера входит в состав сульфгидрильных групп белка (серусодержащие аминокислоты — такие как цистеин, цистин, метионин), участвующих в образовании связей в белковых молекулах и обуславливающих активность многих ферментов.

Белки — наиболее важный компонент клетки, без которых невозможны жизненные процессы. Они определяют характерную структуру протоплазмы. Белки — высокомолекулярные соединения, молекулярный вес их колеблется от

13 000 до нескольких миллионов. В состав всех белков входят углерод, кислород, азот, водород; некоторые белки содержат серу и фосфор.

Белковую молекулу можно рассматривать как высокополимерное соединение, мономером которого служат различные аминокислоты. В белковой молекуле аминокислоты связываются путем присоединения карбоксильной группы одной аминокислоты к аминогруппе другой. В процессе при-

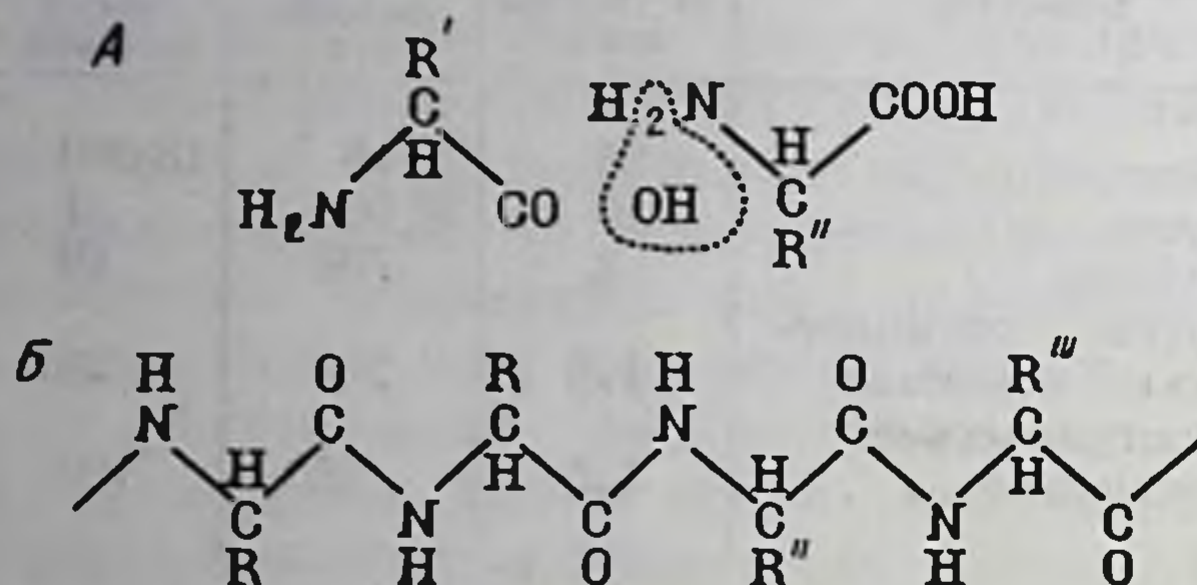


Рис. 4.

А — принцип образования пептидной связи;
Б — полипептидная цепь.

соединения отделяются 2 атома водорода и 1 атом кислорода, образуя молекулу воды, и между оставшимися атомами возникает связь —СО—NH—, называемая пептидной (рис. 4). Соединение аминокислот пептидной связью — это первичная структура белков.

Группа связанных аминокислот называется пептидом: 2 единицы образуют дипептид, 3 — трипептид, несколько — олигопептид; большое число аминокислотных остатков образует полипептид. Каждый белок характеризуется определенным количеством аминокислот, их составом и последовательностью их расположения в молекуле. Отсюда ясно, что из известного в настоящее время числа аминокислот (свыше 20) возможно построение полипептидных изомеров, количество которых будет выражаться 19-значным числом.

Для изучения строения белка важно определить не только последовательность расположения аминокислот в полипептидной цепи, но и выяснить, каким образом пептидная цепь располагается в пространстве, занимаемом молекулой (С. Е. Бреслер, 1963; Б. Йиргенсонс, 1965).

Кроме первичной структуры, в которой действуют ковалентные связи, полипептидные цепи на большем или меньшем протяжении складываются в спиральную структуру (рис. 5), удерживаемую водородными связями, — так называемая вторичная структура. Имеются и более высокие порядки

организации структур белка, например укладка, поддерживаемая гидрофобными, электростатическими или дисульфидными связями, — третичная структура белка. В зависимости от третичной структуры макромолекул принято различать белки фибриллярные, или волокнистые, и белки

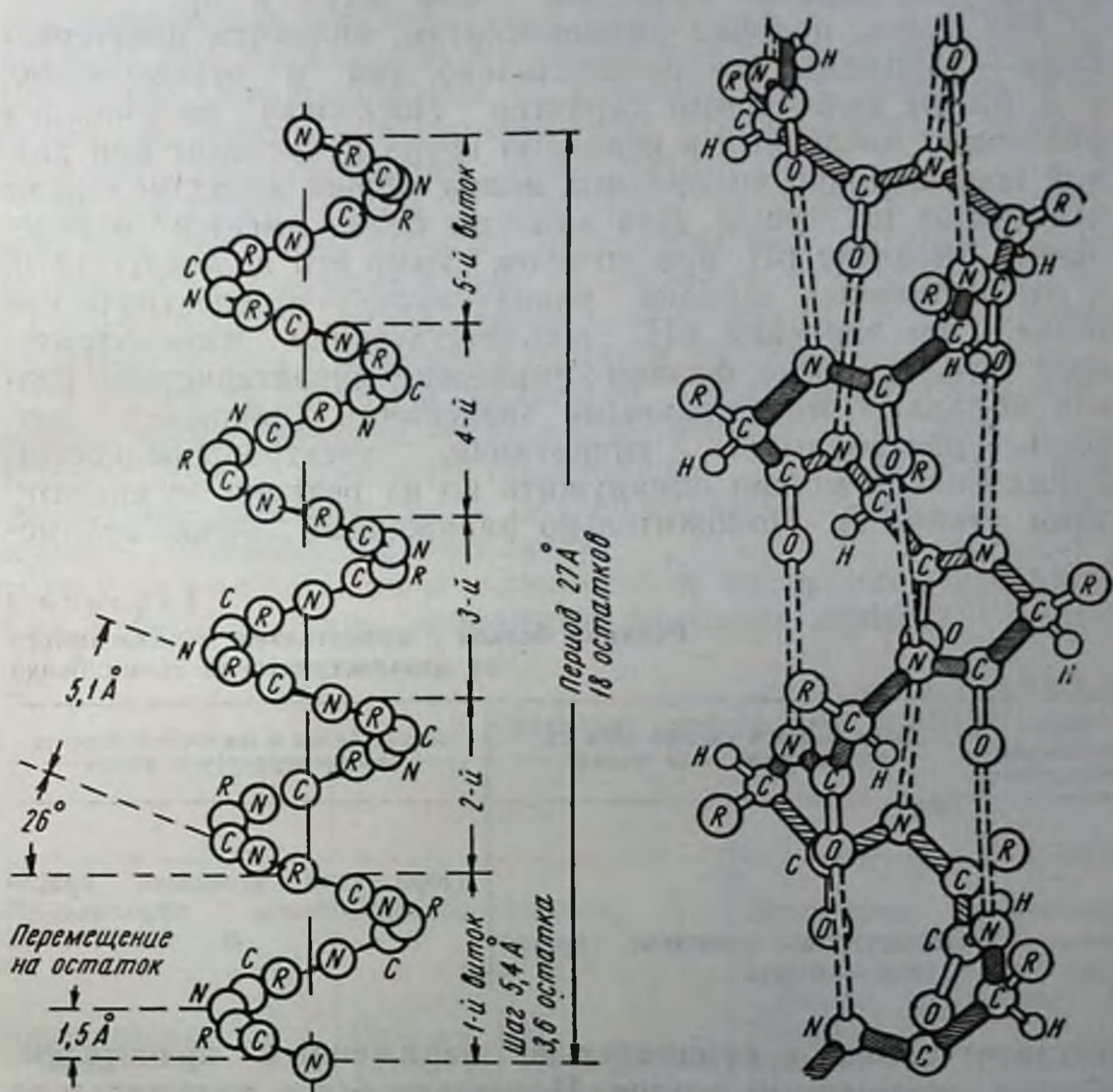


Рис. 5. Модель и схема спиралевидной структуры полипептидной цепи Поллинга — Кори.

глобулярные. Нарушения нативной вторичной и третичной структуры (конфигурации) белка, вызываемые различными факторами (действием тепла, кислот, щелочей, ионизирующего излучения и др.), называют общим термином — денатурацией белков. В результате денатурации вместо уникальной конфигурации, характерной для каждого белка, возникает неупорядоченное состояние полипептидной цепи (например, в глобулярных белках — разворачивание белковой

цепочки, переход к беспорядочному клубку). Существуют представления о большой роли денатурации в различных биологических процессах — в активации яйца (В. А. Дорфман, 1963), в построении митотического аппарата, в процессах повреждения и возбуждения клетки (Д. Н. Насонов и В. Я. Александров, 1940; см. главу XIV) и др.

Все белки, подобно аминокислотам, являются цвиттерионами — заряжены как положительно, так и отрицательно, т. е. имеют амфотерный характер. Поскольку диссоциация различных кислотных и основных групп происходит при разной концентрации водородных ионов, общий заряд молекулы зависит от рН среды. Для каждого белка имеется определенное значение рН, при котором сумма его положительных и отрицательных зарядов равна нулю — изоэлектрическая точка. При значении рН, соответствующем изоэлектрической точке, многие физико-химические характеристики белков обладают минимальными значениями (например, вязкость, растворимость, гидратация, электропроводность). Заряд белков можно обнаружить по их реакции с красителями (табл. 2). Положительно заряженный белок взаимо-

Таблица 2
Реакция белков с красителями в зависимости от изоэлектрической точки белка

Заряд молекулы красителя	Заряд белка в кислой зоне от изоэлектрической точки	Заряд белка в щелочной зоне от изоэлектрической точки
+	+	—
—	0	0
	Образуется комплекс краситель — белок	Образуется комплекс краситель — белок

действует только с отрицательно заряженным красителем, образуя окрашенный осадок. Поскольку белок положительно заряжен только в кислой зоне от изоэлектрической точки, реакция с отрицательно заряженными красителями может происходить только при низком значении рН. Отрицательно заряженный белок реагирует только с положительно заряженным красителем, образуя окрашенный осадок; молекула белка заряжена отрицательно только в щелочной зоне от изоэлектрической точки.

Биохимические цветные реакции, применяемые для идентификации *in vitro* белков, не дают представления об их точной локализации. Гистохимические методы выявления белков основаны на определении отдельных реактивных групп аминокислот. Эти методы достаточно доказательны, так

как в процессе изготовления препаратов растворяются свободные аминокислоты и выявляются лишь аминокислоты, входящие в состав белков.

Белки, состоящие только из сочетания аминокислот, называют простыми. Белки, представляющие собой сочетание простого белка с веществами небелковой природы, т. е. с так называемой простетической группой, относят к сложным белкам. Все сложные белки очень важны в биологическом отношении. Классификация их основана на химических особенностях небелковых компонентов: фосфопротеиды, глюкопротеиды, хромопротеиды, нуклеопротеиды.

Фосфопротеиды содержат фосфорную кислоту; в тканях эти белки активно превращаются, интенсивно отщепляя и присоединяя к себе фосфорную кислоту. В глюкопротеидах белок связан с углеводами и их производными; к ним относятся муцины и мукоиды.

Хромопротеиды включают окрашенные простетические группы (иногда содержащие металл — Fe или Cu). К этим белкам относятся гемоглобины, гемоцианины, ряд ферментов, участвующих в окислительных процессах (например, каталаза, пероксидаза).

Нуклеопротеиды относятся к числу наиболее важных в биологическом отношении белковых веществ. Белки

Таблица 3
Сравнение свойств ДНК и РНК в клетке

	ДНК	РНК
Локализация	Ядро (хромосомы)	Цитоплазма (митохондрии, рибосомы, гиа-лоплазма), ядро (ядрышко, хромосомы)
Пиримидиновые основания	Цитозин (Ц) Тимин (Т) (иногда также метилцитозин)	Цитозин (Ц) Урацил (У)
Пуриновые основания	Аденин (А) Гуанин (Г)	Аденин (А) Гуанин (Г)
Пентозы	Дезоксирибоза	Рибоза
Молекулярный вес	4 000 000—8 000 000	20 000—2 000 000
Количество мононуклеотидов	12 000—25 000	4 000—6 000
Структура молекулы	Двуцепотчатая	Одноцепотчатая
Гидролизующие ферменты	Дезоксирибонуклеаза	Рибонуклеаза
Гистологическое выявление	Реакция Фельгена	Базофильные красители
Избирательное поглощение ультрафиолетовых лучей	260 мμ	260 мμ

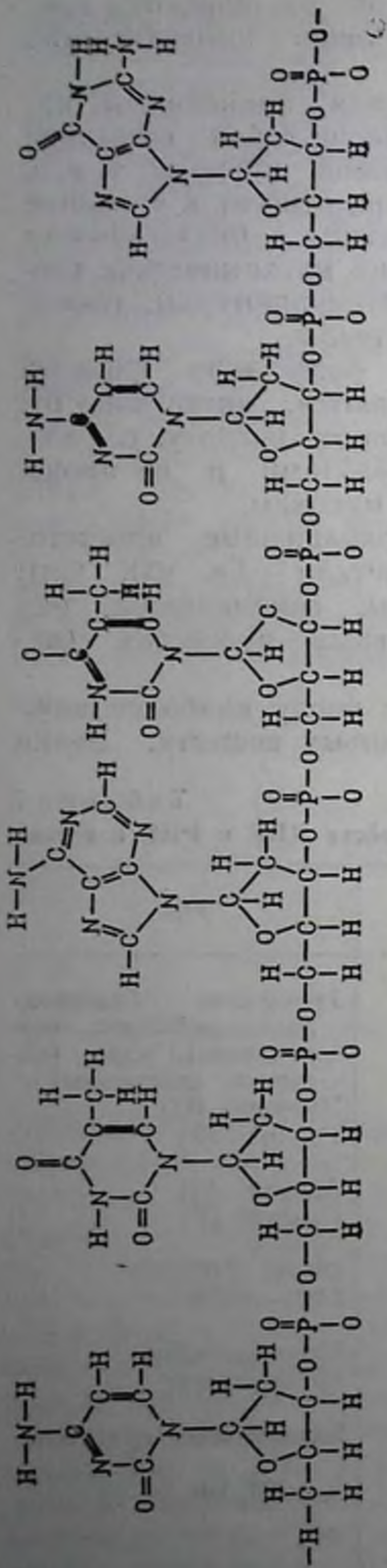


Рис. 6. Схема химического строения отдельной полинуклеотидной цепи ДНК. Внизу — скелет молекулы из остатков фосфорной кислоты, вверху — азотистые основания.

нуклеопротендов представлены чаще гистонами и протаминами. Простетические группы нуклеотидов — нуклеиновые кислоты: дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК) — относятся к высокомолекулярным соединениям: их молекулярный вес от десятков тысяч до нескольких миллионов (см. также главы V и X). Нуклеиновая кислота представляет собой полимер из большого количества нуклеотидов, составляя длинные полинуклеотидные цепи (табл. 3).

Каждый нуклеотид — сочетание молекул сахара (пентозы или дезоксипентозы), азотистого основания (пурина или пиримидина) и фосфорной кислоты (рис. 6, 7). ДНК определяет специфическую структуру синтезируемых в клетке белков и обеспечивает передачу этой специфичности в поколениях (см. главы X, XI); РНК непосредственно участвует в процессе биосинтеза белка, в создании его специфической структуры.

Разнообразие молекул нуклеиновых кислот обусловлено последовательностью 4 различных азотистых оснований. Из гидролизатов нуклеиновых кислот выделены, помимо нуклеотидов, также нуклеозиды (сочетание основания и пентозы) и пентозофосфорные кислоты. В молекулах мононуклеотидов пентоза занимает срединное положение, присоединяя к себе с одного края глюкозидной связью пуриновое или пиримидиновое осно-

вание, с другого, через эфирную связь, — фосфорную кислоту. В ДНК, кроме эфирных связей, соединяющих между собой молекулы мононуклеотидов, имеются еще

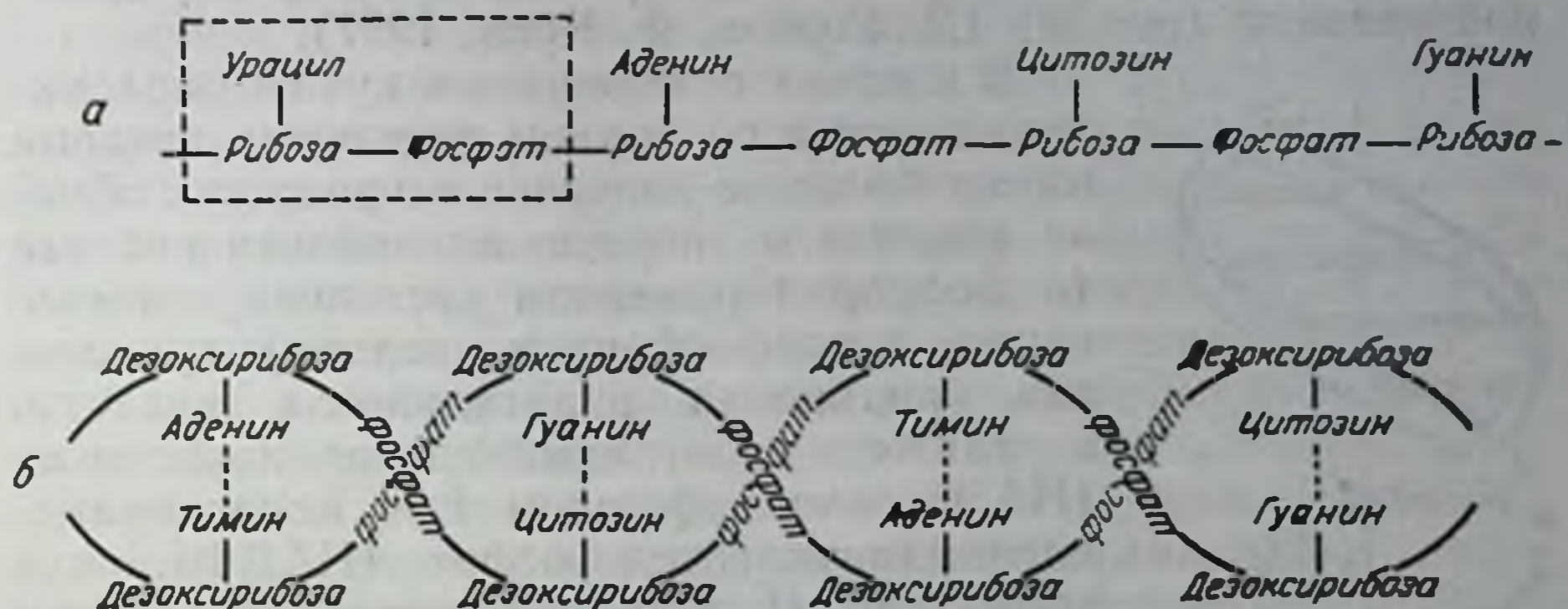


Рис. 7. Сравнение химического строения молекул РНК (а) и ДНК (б). Молекула РНК с одноцепотчатой структурой; в рамку взято характерное для РНК соединение (нуклеотид) из основания — урацила, сахара — рибозы и фосфата. Молекула ДНК двуцепотчатая; нуклеотид ДНК содержит сахар — дезоксирибозу, вместо урацила основание — тимин, и фосфат. Азотистые основания — аденин, цитозин, гуанин входят в состав обеих нуклеиновых кислот.

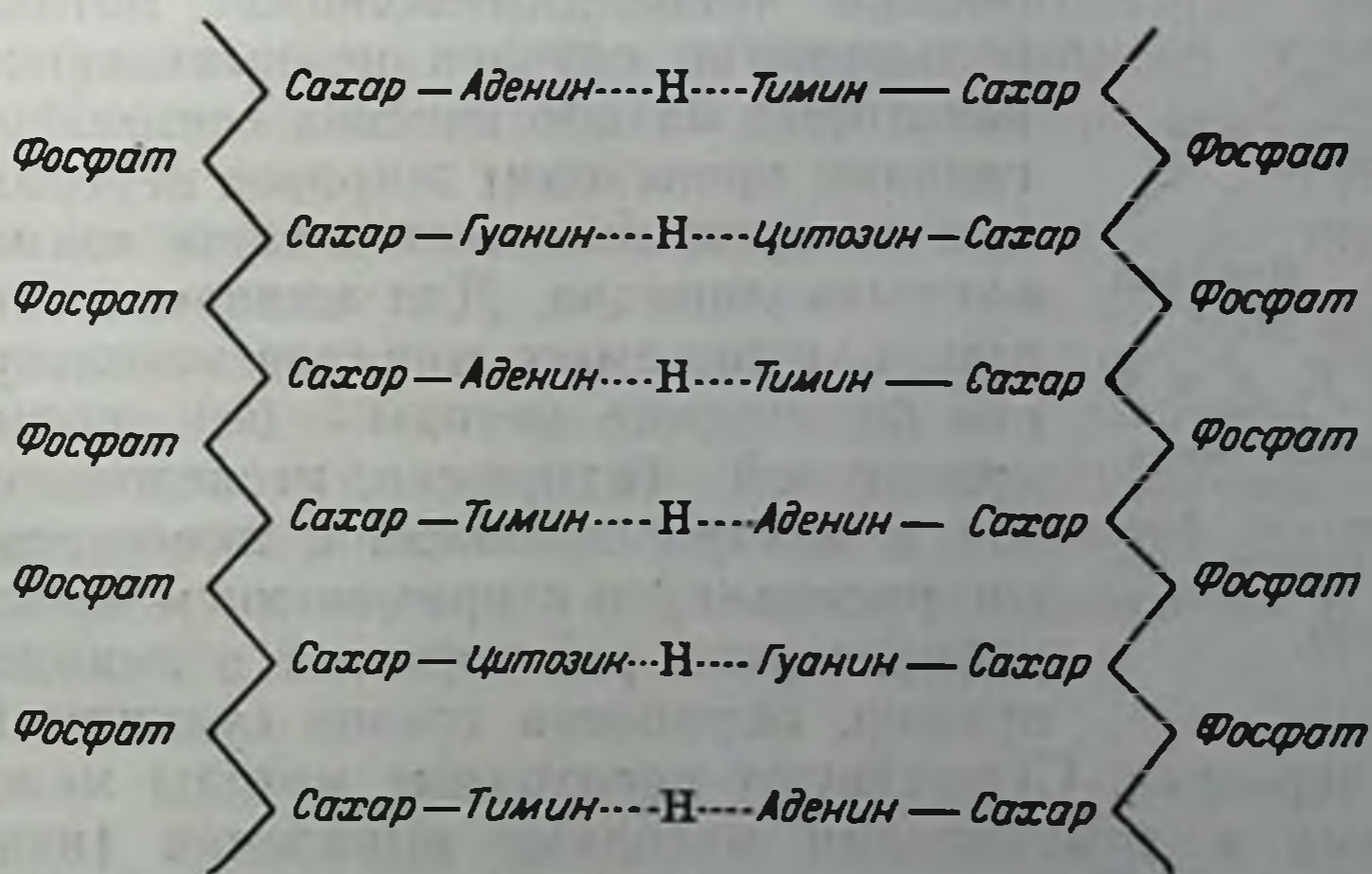


Рис. 8. Схема химического строения молекулы ДНК из двух полинуклеотидных цепей; основания соединены водородными связями (Н).

и водородные связи, соединяющие друг с другом два нуклеотидных ряда (рис. 8). Watson и Crick (1953) предложили модель ДНК в виде двух антипараллельных цепей, или тяжей, соединяющихся друг с другом на всем протяже-

нии водородными связями между противоположащими основаниями так, что образуются пары только двух видов: аденин — тимин (А—Т) и цитозин — гуанин (Ц—Г). Оба тяжа закручиваются друг около друга, давая картину двойной спирали (рис. 9) (Д. Уотсон, Ф. Крик, 1957).

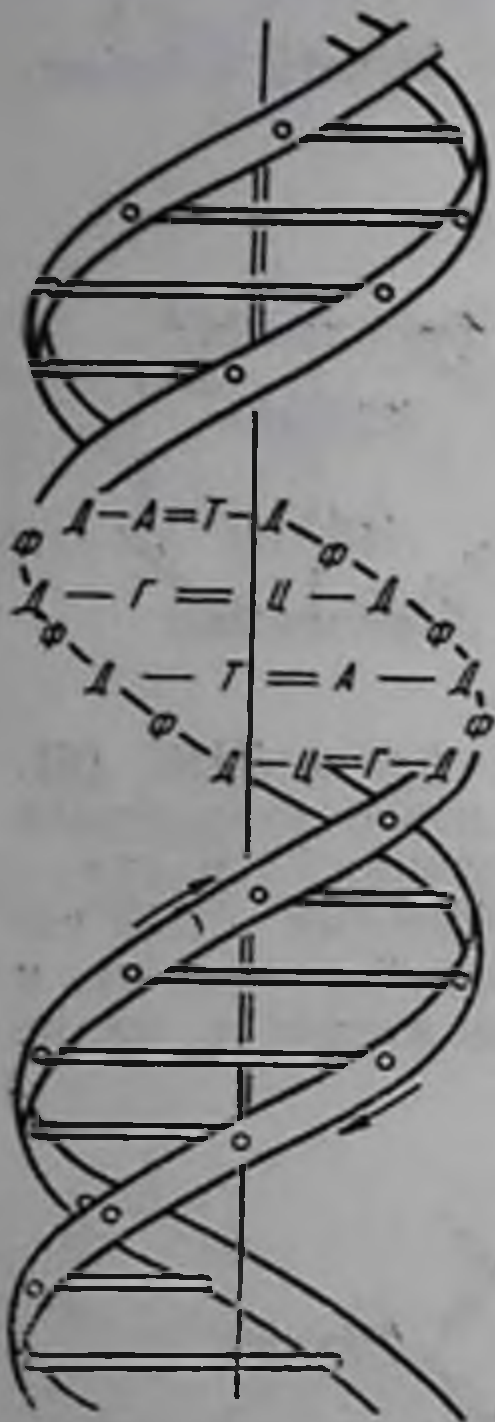


Рис. 9. Двойная спираль ДНК.

А, Т, Ц, Г, Д и Ф означают соответственно аденин, тимин, цитозин, гуанин, дезоксирибозу и фосфатные группы (по Уотсону и Крику, 1957).

В клетках содержатся и нуклеотиды, находящиеся в свободном состоянии, которые имеют большое значение в процессах обмена веществ и энергии: адениловая кислота (в фосфорилированном состоянии — аденозинди- и трифосфорные кислоты), гуаниловая, уридиновая и цитидиновая кислоты, а также никотинамидадениндинуклеотид (НАД); или кофермент I, и никотинамидадениндинуклеотид-фосфат (НАДФ), или кофермент II, промежуточные переносчики водорода при действии дегидраз.

Липиды представлены в тканях и в клетках в виде различных по своей химической природе жироподобных веществ. Значительная часть липидов связана с белками — липопротеидные комплексы (так называемые замаскированные липиды). Эти липиды чисто химическими методами в большинстве случаев не выявляются. При некоторых патологических состояниях в организме происходит жировое перерождение, при котором выявляется часть «замаскированных» липидов. Для выявления свободных, или видимых, липидов используют чисто физические методы — без применения красителей (например, исследование срезов в поляризационном и люминесцентном микроскопах) и с применением красителей, избирательно растворимых в липидах (например, обработка срезов суданом III, суданом черным). Существуют переходные методы между физическими и химическими методами выявления (например, окраска нильоким голубым, который присоединяется к отдельным липидам) и чисто химические методы (обработка четырехокисью осмия, протрава металлами).

Углеводы — источники энергии животных и растительных организмов. У растений углеводы, кроме того, входят в состав оболочек клеток.

Биологически важные углеводы можно разделить на моносахариды, дисахариды и полисахариды. Среди моносахаридов $[C_n(H_2O)_n]$ наибольшее значение для клетки имеют

пентозы и гексозы. Пентозы (рибоза и дезоксирибоза) содержатся в молекулах нуклеиновых кислот, представитель гексоз — глюкоза — основной источник энергии клетки. Из дисахаридов ($C_{12}H_{22}O_{11}$) наиболее важны лактозы у животных и сахароза и мальтоза — у растений. Наиболее важными в биологическом отношении полисахаридами $[(C_6H_{10}O_5)_n]$ являются у растений крахмал (запасное питательное вещество) и целлюлоза (структурный элемент клетки), у животных — гликоген (запасное питательное вещество). Среди полисахаридов следует рассмотреть мукополисахариды, содержащиеся в качестве одного из компонентов гексозаминов, встречающиеся в свободной форме или в виде эфиров серной кислоты. Последние обычно прочно связаны с белковыми веществами. Простые и сложные кислые мукополисахариды содержат в качестве второго углеводного компонента гексуроновую кислоту (преимущественно глюкуроновую), а нейтральные мукополисахариды вместо нее — гексозы. К последним относится, например, хитин. К кислым мукополисахаридам относятся гиалуроновая кислота, хондроитинсерная кислота и гепарин. Гиалуроновая кислота входит в состав основного вещества соединительной ткани; вследствие своей высокой вязкости она влияет на проницаемость оболочек клеток. Хондроитинсерная кислота также содержится в основном веществе соединительной ткани; особенно много ее в хряще. Гепарин широко представлен в тканях животных (особенно в печени, сердце, мышцах, легких).

Гистохимические методы определения углеводов позволяют не только констатировать наличие углеводов, но и идентифицировать их. Наиболее часто применяется реакция Шиффа с периодной кислотой (ШИК-реакция).

Все большее применение находят количественные методы цитохимии, позволяющие в объективных величинах выразить распределение химических комплексов в клетке (В. Я. Бродский, 1956; Л. С. Агроскин и др., 1960).

Физико-химические свойства протоплазмы

Поскольку протоплазма — гетерогенная система сложно организованных структур, рассмотрение ее физико-химических свойств как однородной коллоидной системы является недостаточным. Сведения о физико-химических свойствах отдельных компонентов протоплазмы пока еще

весьма ограничены. Имеющиеся по этому поводу данные мы излагаем в соответствующих главах, посвященных отдельным органоидам. Здесь мы останавливаемся на суммарных коллоидно-химических свойствах протоплазмы. Коллоидные растворы отличаются от истинных растворов крупными размерами взвешенных частиц (от 1 до 500 μ). Протоплазма приобретает свойства коллоидных систем благодаря крупным размерам входящих в ее состав молекул белков, нуклеиновых кислот и углеводов и способности этих молекул к полимеризации и агрегации. В коллоидах (см. подробнее: Д. Л. Рубинштейн, 1947; В. Бладергрён, 1951; И. Н. Буланкин, 1959) можно установить наличие по меньшей мере двух фаз, отделенных друг от друга физической поверхностью раздела. Та фаза, в которой взвешены частицы, т. е. которая является как бы растворителем, называется дисперсионной средой (непрерывная фаза, или интермицеллярная жидкость); фаза, представленная частицами, — дисперсной фазой. В протоплазме дисперсная фаза может быть представлена плотными частицами (суспензоиды) или чаще жидкостью (эмульсоиды). Протоплазма как коллоидная система обладает рядом свойств, присущих всем коллоидам, но как живая система она характеризуется рядом специфических физико-химических особенностей, отличающих ее от неживых коллоидов.

Для коллоидных частиц характерно интенсивное беспорядочное движение — броуновское движение. При движении частиц возможны столкновение и их связывание, т. е. агрегация частиц, в результате которой степень дисперсности коллоидной системы уменьшается. Устойчивость коллоидов, т. е. способность их частиц оставаться во взвешенном состоянии, не выпадая в осадок, обусловлена тем, что коллоидные частицы несут на поверхности одноименный электрический заряд. Каждая частица коллоида окружена двумя противоположно заряженными слоями. Внутренний электрический слой образован зарядом самой частицы. Наружный слой образован окружающими частицу водородными (H^+) ионами (если частица заряжена отрицательно) или гидроксильными (OH^-) ионами (если частица заряжена положительно). Разность потенциалов между этими противоположно заряженными слоями, дзета потенциал (Z), играет основную роль в устойчивости коллоидов. Под влиянием электрического поля коллоидные частицы движутся (электрофорез) к катоду, если они заряжены положительно, и к аноду, если они заряжены отрицательно. Исследования электрофореза эритроцитов, сперматозоидов, яиц беспозвоночных показали, что заряд поверхности клетки отрицательный, т. е. белки клеточной поверхности находятся

в щелочной зоне по отношению к своей изоэлектрической точке.

Коллоиды, в которых не обнаруживается притяжения между растворителем и коллоидно-дисперсными частицами, называются лиофобными; коллоиды, для которых характерно притяжение между фазами, — лиофильными (если дисперсионная среда вода, то соответственно говорят о гидрофобных и гидрофильных коллоидах). Неорганические сое-

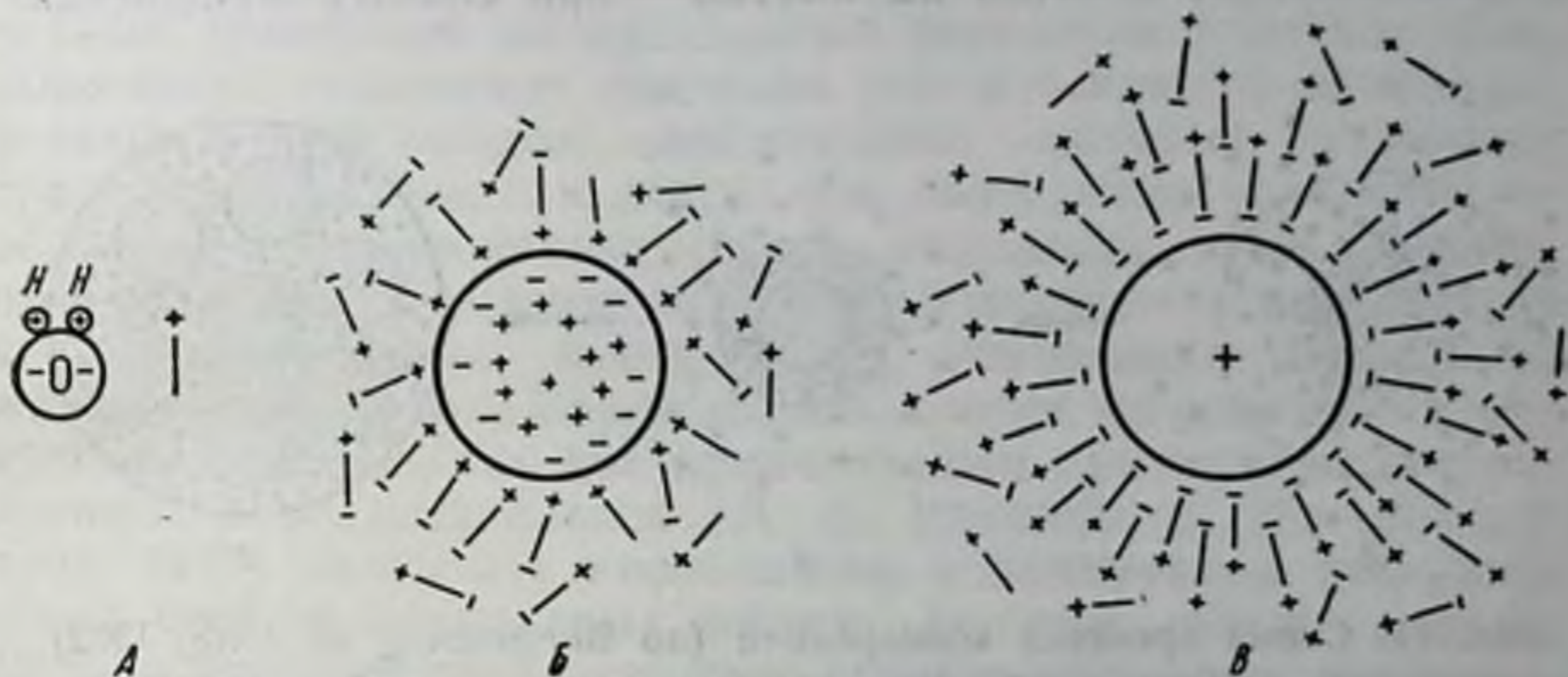


Рис. 10.

А — модель молекулы воды и схема диполя; Б — гидратация изоэлектрической коллоидной частицы; В — гидратация положительно заряженной коллоидной частицы (по Фрей-Висслингу, 1950).

динения дают в основном гидрофобные коллоиды; все биологически важные коллоиды гидрофильные. Они значительно более стабильны, чем гидрофобные коллоиды, что обусловлено не только электрическим зарядом частиц, но и притяжением молекул среды, образующих вокруг частиц сольватационный (или гидратационный) слой. Молекулы воды этого слоя закономерно ориентированы вследствие поляризующего действия заряда частиц. В молекуле воды электрические заряды распределены неравномерно, образуя диполь. В изоэлектрической точке заряд частиц минимален, степень гидратации тоже имеет минимальную величину, сольватационный слой уменьшается и происходит выпадение частиц. Между ориентированными и свободно движущимися молекулами воды нет резкой границы, так как силы, связывающие их с частицами, постепенно уменьшаются с расстоянием (рис. 10).

При потере коллоидными частицами электрического заряда происходит их агрегация, степень дисперсности кол-

выделяет часть жидкой фазы вместе с растворенными в ней веществами — синерезис. Для гидрофильных коллоидов характерно обратимое изменение гель \rightleftharpoons золь под влиянием механических факторов (встряхивание, размешивание и т. п.) — тиксотропия. Протоплазма — весьма подвижный тиксотропный гель. В основе взаимных переходов гель — золь лежит функциональное состояние клетки.

При исследовании физических свойств и физического состояния протоплазмы возникает вопрос об ее агрегатном состоянии. В протоплазме все время происходят обратимые изменения гель \rightleftharpoons золь, т. е. в ней нет резкой грани между твердым и жидким состоянием. Критерием агрегатного состояния протоплазмы является степень ее вязкости.

Первые исследования вязкости протоплазмы были основаны на субъективных впечатлениях. Так, применяя микроургические методы Chambers (1924), определяли вязкость клетки при помощи внедрения в нее микроигл. О степени вязкости судили по сопротивлению продвижения игл в клетке. Зейфриц установил школу вязкости, основываясь на сравнении сопротивления при движении игл в воде и в разных растворах. Этим методом хотя и удавалось локализовать отдельные твердые структуры клетки, но само внедрение микроинструментов вызывало изменение вязкости протоплазмы.

Существует ряд микрометодов, позволяющих измерить вязкость протоплазмы. Метод центрифугирования основан на зависимости скорости падения сферических частиц от вязкости среды. Этим методом пользовался на растительных объектах А. Гейльброн, наблюдая скорость падения крахмальных зерен; Л. Гейльбрун, применяя этот метод к животным клеткам, наблюдал перемещение пигментных зерен при центрифугировании. Вязкость измеряют и по броуновскому движению. А. Гейльброном был разработан также электромагнитный метод количественного измерения вязкости. О вязкости судили по силе тока, необходимой для смещения в клетке металлических частиц под действием электромагнита с последующим сравнением этого показателя с силой тока, требуемой для смещения таких частиц в воде. Для введения металлических частиц в клетку приходится применять микроургические методы, т. е. повреждать клетку, изменяя тем самым ее состояние.

Вязкость цитоплазмы колеблется в широких пределах, ее выражают в сантипуазах (вязкость воды при 20° равна 1 сантипуазу). Так, в яйцеклетках некоторых беспозвоночных и в растительных клетках вязкость цитоплазмы всего 3—4 сантипуаза, а вязкость некоторых клеток, особенно богатых включениями и метаплазматическими структурами,

может достигать нескольких тысяч сантипуаз. Вязкость нельзя охарактеризовать каким-то средним значением, общим для всех клеток. Даже в пределах одной и той же клетки разные участки цитоплазмы могут быть в различном агрегатном состоянии, например плазматическая оболочка и веретено деления могут обладать свойствами геля (плотность, эластичность), а остальная цитоплазма — золя. Протоплазма, таким образом, является сложной гетерогенной системой, разные участки которой одновременно могут быть и в состоянии геля и в состоянии золя. Вопрос об агрегатном состоянии протоплазмы в связи с этим утрачивает свою остроту. От неживых коллоидных систем протоплазма отличается также высокой лабильностью.

Вязкость существенно меняется под влиянием разнообразных внешних воздействий — действия ионов, изменения температуры. Для живой системы характерно падение вязкости как при повышении, так и при понижении температуры; дальнейшее повышение или понижение температуры одинаково вызывает увеличение вязкости. Меняется вязкость и в результате протекающих в клетке физиологических процессов. Так, известно увеличение вязкости после активации яйца (В. А. Дорфман, 1963); во время митоза клетки формирование веретена деления связано с местной желатинизацией цитоплазмы. Одним из примеров изменения агрегатного состояния протоплазмы может служить амебоидное движение (см. главу XIII), в основе которого лежит переход геля в золь и обратно. Существенные изменения претерпевает протоплазма при возбуждении и наркозе клетки. Так, при раздражении амебы электрическим током происходит желатинизация цитоплазмы, что выражается мгновенной остановкой броуновского движения. Наркоз, наоборот, уменьшая вязкость протоплазмы, препятствует митотическому делению клетки. Протоплазма, таким образом, характеризуется быстрыми обратимыми изменениями своего коллоидного состояния гель ↔ золь и высокой лабильностью.

Желатинизирование, коагуляция и коацервация свойственны как биологическим, так и неживым системам. Специфической коллоидно-химической реакцией протоплазмы является ее способность уплотняться на наружной поверхности. Если клетку раздавить или разорвать, то вокруг выступившей протоплазмы образуется мембрана — поверхностная реакция преципитации. Благодаря поверхностной реакции преципитации клетка быстро ликвидирует свои повреждения. Л. Гейльбрун показал, что эта реакция осуществляется в присутствии ионов кальция, и отметил ее сходство с процессом свертывания крови.

III

МИТОХОНДРИИ

Митохондрии являются органоидом, который содержится в цитоплазме всех клеток животных и растений¹. Открытие митохондрий обычно связывают с именем Бенда (1898), хотя эти структуры значительно раньше были описаны под другими названиями Флеммингом (1882) и Альтманом (1890). Разнообразие формы этого органоида обусловило то, что терминологические разногласия первых лет исследований сохранились до наших дней. До сих пор можно встретить множество разных названий: «хондриосомы», «хондриом», «хондриоконты», «пластосомы» и др. Итальянские и французские исследователи для обозначения всех разновидностей этого органоида широко пользуются термином «хондриом», тогда как митохондриями называют лишь разновидность, имеющую форму зерен. В современной отечественной, английской и американской литературе наиболее распространен термин «митохондрии» (по-гречески *mitos* — нить, *chondros* — зерно). Мы также будем придерживаться этого названия, используя его как собирательный термин.

¹ Среди различных клеток позвоночных животных исключение составляют эритроциты, которые в процессе развития утрачивают митохондрии, а зрелые клетки их не содержат (Cowdry, 1917; Kisch, 1961).

В отличие от многих других компонентов цитоплазмы, митохондрии являются объектом, удобным для морфологических и биохимических исследований. Существуют несложные и достаточно надежные методы, которые позволяют выявить митохондрии на фиксированном препарате и в живой клетке. Для биохимических исследований митохондрии могут быть изолированы из клетки в виде относительно чистой фракции. Наконец, разработаны четкие цитохимические реакции для световой и электронной микроскопии, позволяющие проследить химические изменения митохондрий без грубых нарушений их структуры. Именно поэтому сотрудничество морфологов и биохимиков оказалось особенно плодотворным при изучении митохондрий.

Морфология. Форма митохондрий различна в разных типах клеток. Они имеют вид либо небольших гранул (собственно митохондрии), либо палочек (рис. 12) или нитей (хондриоконты), либо цепочек из отдельных гранул (хондриомиты). Первоначально полагали, что эти разновидности имеют специфические морфологические и функциональные особенности и поэтому пользовались специальными терминами для обозначения каждой из них. Однако в дальнейшем стало очевидным, что форма митохондрий не отражает специфических различий органоида. Митохондрии очень лабильны (см. ниже) и при изменении состава среды (осмотического давления, концентрации водородных ионов), при разных функциональных состояниях и различных воздействиях на клетку одна разновидность митохондрий может переходить в другую. Даже в одной клетке митохондрии могут иметь разную форму. Так, например, в эпителии кишечника в апикальной и околядерной зонах клетки митохондрии имеют форму палочек, а в базальной части — форму гранул.

Электронномикроскопическими исследованиями (Palade, 1952; 1953; Sjöstrand, 1953; Sjöstrand, Rhodin, 1953; Sjöstrand, Hanson, 1954; Ф. Шёстранд, 1959, 1963, и др.) было



Рис. 12. Митохондрии в клетках придатка семенника мыши.

Светлая зона между ядром и свободной поверхностью клетки — область локализации комплекса Гольджи. Импрегнация осмиевой кислотой по Шампи-Кулю (по Д. Н. Насонову, 1963).

показано, что митохондрии образованы тремя компонентами (рис. 13, 14).

1. Снаружи митохондрии ограничены наружной мембраной, образованной двумя плотными осмиофильными слоями, между которыми расположен светлый, не окрашивающийся осмиевой кислотой слой.

2. Изнутри наружную мембрану подстилает внутренняя мембрана, отделенная от наружной мембраны узким

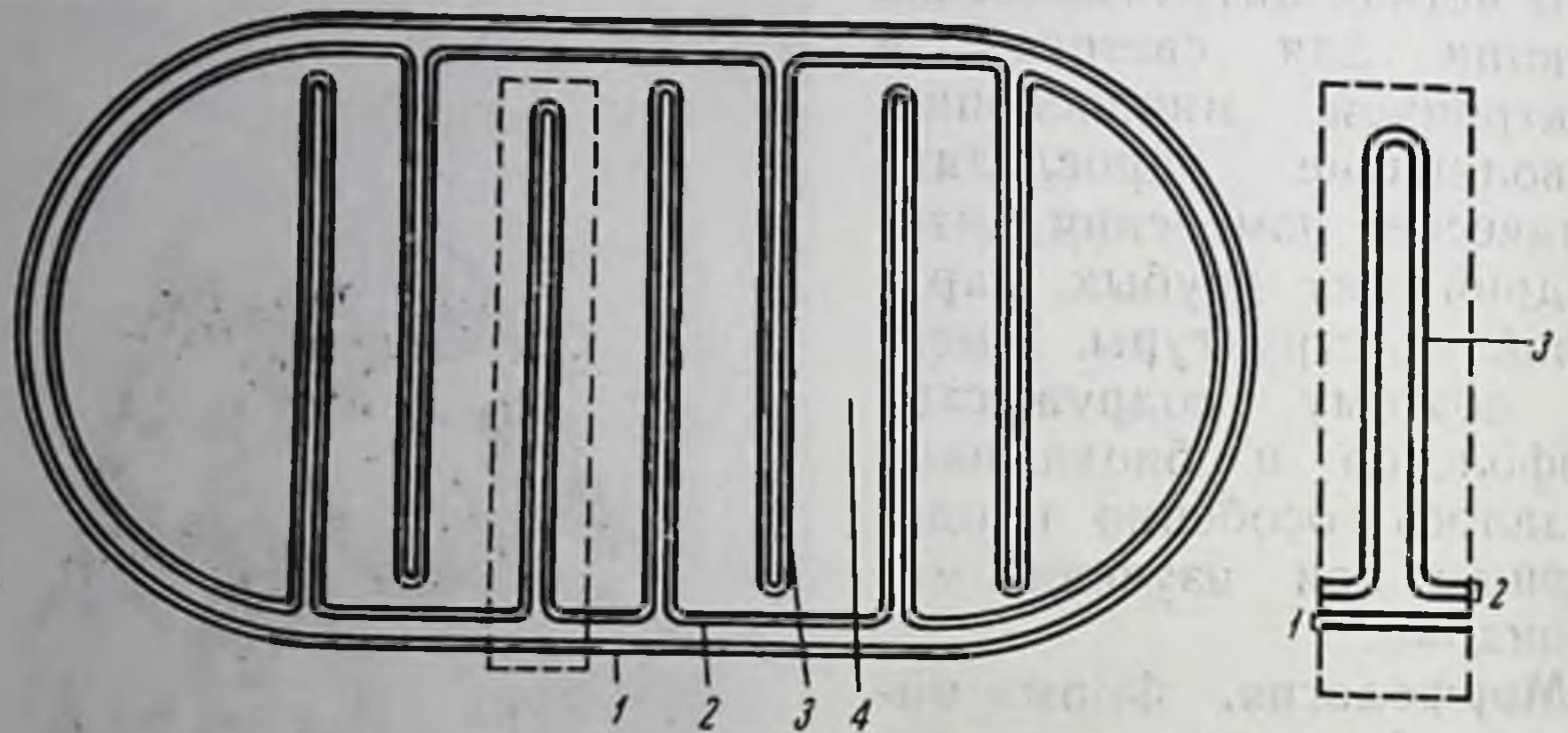


Рис. 13. Схема ультраструктурной организации митохондрий.

1 — наружная митохондриальная мембрана; 2 — внутренняя мембрана; 3 — митохондриальные кристы — складки внутренней мембраны; 4 — матрикс.

(60—80 Å) щелевидным пространством. Обе мембраны образуют ограничивающую митохондрии оболочку и придают ей характер двойной многослойной мембраны. От внутренней митохондриальной мембраны внутрь вдаются ее складки, которые называют митохондриальными кристами (*cristae mitochondriales*). Кристы лежат параллельно друг другу и обычно ориентированы поперек продольной оси митохондрии. Кристы образованы двойными мембранами, каждая из которых имеет трехслойную структуру. Между обеими мембранами внутри каждой кристы описывают иногда центральную пластинку, служащую ее сердцевинной (Pease, 1962).

3. Внутренние пространства между митохондриальными кристами заполнены гомогенным веществом — матриксом митохондрии, которое плотнее, чем окружающая органоида цитоплазма. Химический состав его неизвестен. В матриксе иногда встречаются митохондриальные включения, имеющие вид мелких гранул. Эти гранулы в некоторых случаях достигают размеров в 500—800 Å и могут иметь собственную оболочку (Deschner, 1963). Химическая природа этих включений неясна. Известно, что в клетках куриного эмбриона

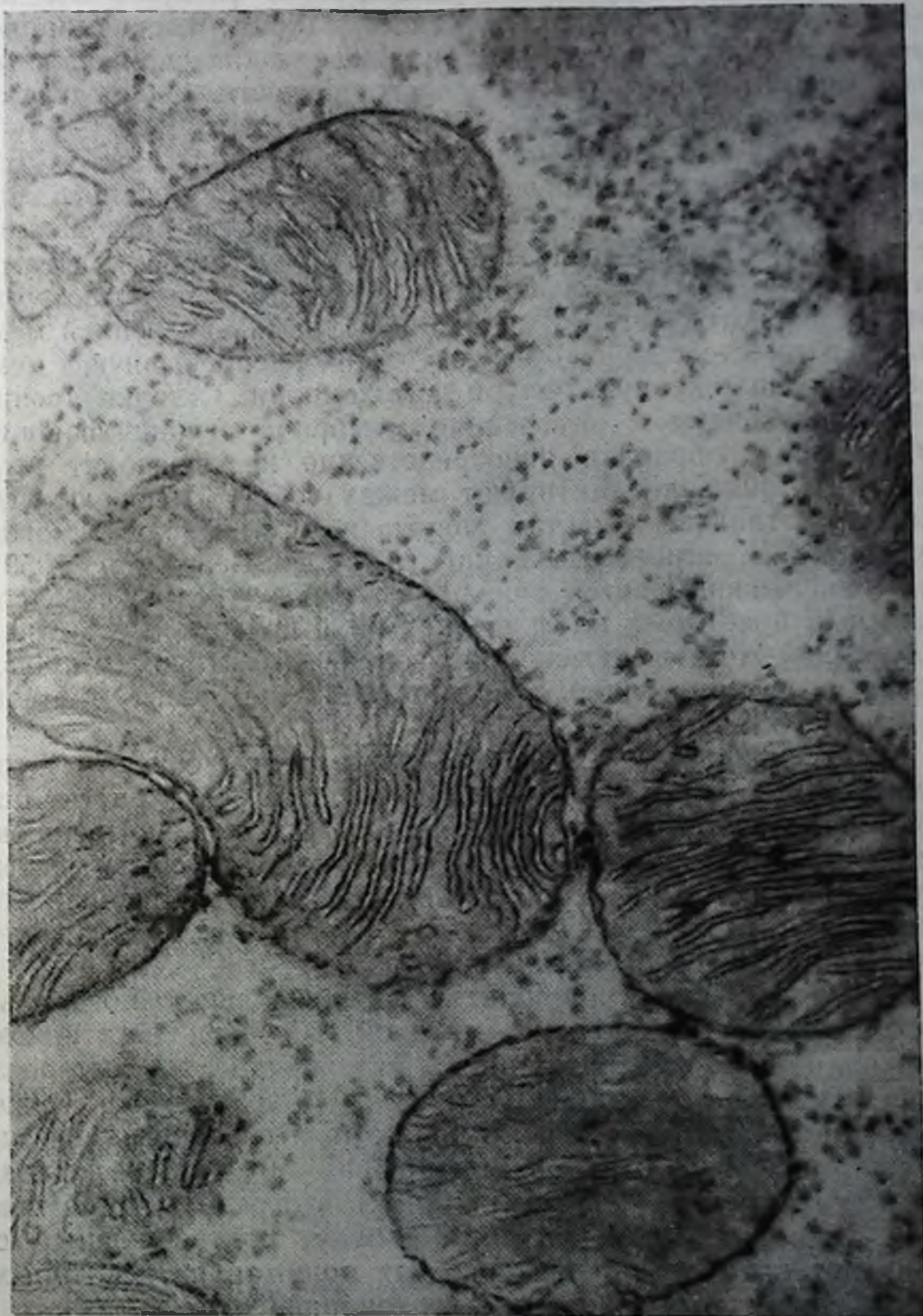


Рис. 14. Митохондрии из миокарда кролика. Электронная микрофотография (оригинал). Увеличение $\times 70\ 000$.

в процессе развития число их увеличивается, тогда как при набухании митохондрий оно уменьшается (Schjeid, McCandless, Wilkens, Peterson, Alexander, 1963). Высказывались предположения, что митохондриальные включения служат либо местом накопления резервных веществ, либо двухвалентных катионов (Peachey, 1962).

Несмотря на четкие электронномикроскопические картины, в интерпретации полученных данных нет единогласия. Это прежде всего относится к вопросу о взаимоотношениях между мембранами ограничивающей оболочки и кристами. Palade, а за ним и большинство цитологов полагают, что кристы являются истинными дубликатами внутренней мембраны и вместе с ней образуют единую непрерывную мембрану, расположенную внутри митохондрии. С точки зрения Sjöstrand, кристы и внутренняя мембрана ограничивающей митохондрию оболочки непосредственно не переходят друг в друга и лишь контактируют между собой. Признают, что только в отдельных местах внутренняя мембрана может переходить в мембраны крист (Andersen-Cedergren, 1959). Наконец, высказывается еще одна точка зрения, согласно которой в некоторых клетках (печени и почек хомячка, поджелудочной железы крысы) образование крист может происходить не из внутренней, а из наружной мембраны (Malhotra, 1962; Chandra, 1962).

Дискуссионным остается и вопрос о протяженности митохондриальных крист. По данным одних авторов, кристы, подобно диафрагмам, полностью перегораживают внутреннюю полость митохондрии, разделяя ее на отдельные сегменты. Другие полагают, что кристы не образуют изолированных сегментов матрикса. Возможно, что в разных клетках могут быть и те и другие отношения.

В последние годы приводится описание еще одного ультраструктурного компонента митохондрий. При негативном окрашивании нефиксированных митохондрий Neugospoga cassa в них были выявлены мелкие ($\sim 85 \text{ \AA}$) сферические тельца, расположенные между кристами и связанные с ними тонкими ножками длиной около $40\text{--}50 \text{ \AA}$ (StoECKENIUS, 1963). Эти тельца настолько лабильны, что разрушаются при любой фиксации. Если эти данные будут подтверждены, то они представят большой интерес для понимания некоторых биохимических особенностей митохондрий.

Митохондрии разных клеток сохраняют общий план строения и различия между ними заключаются лишь в деталях. По данным Ф. Шёстранда (1959), в клетках почки митохондриальные кристы имеют вид поперечных диафрагм, образующих почти полные поперечные перегородки. В митохондриях палочек сетчатки кристы имеют неправильные

очертания, полностью не перегораживают матрикса митохондрии и между отдельными сегментами всегда сохраняются коммуникации (рис. 15). В различных типах клеток варьирует также плотность расположения митохондриальных крист. Так, в митохондриях эпителия почки, скелетной

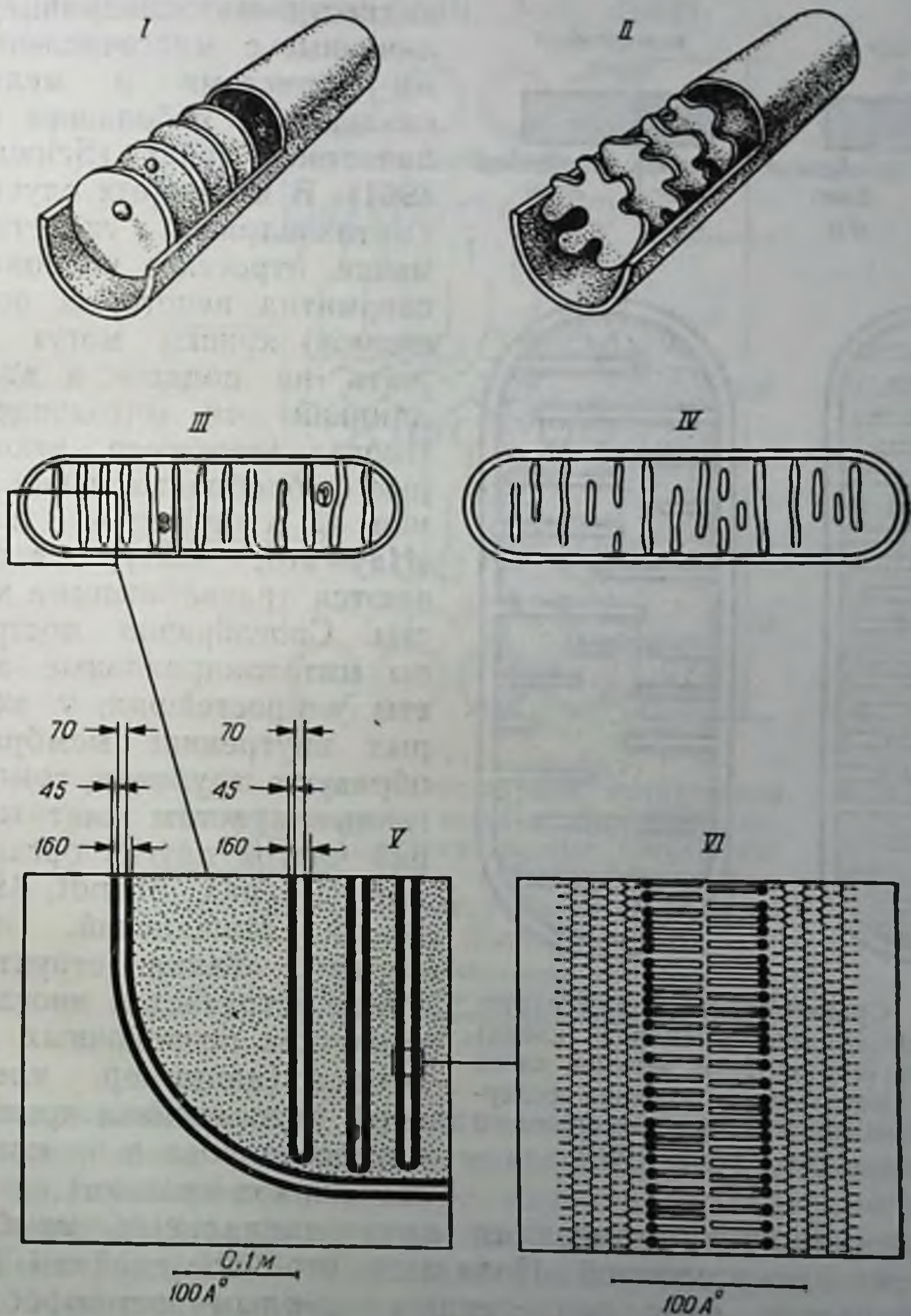


Рис. 15. Трехмерная реконструкция ультраструктурной организации митохондрий (по Шёстранду, 1954).

I — митохондрии почки; *II* — митохондрии палочки сетчатки; *III—IV* — плоскостная схема обоих типов митохондрий; *V* — размеры митохондриальных мембран; *VI* — молекулярная организация мембран в виде двух белковых слоев, разделенных двойным слоем липидов.

и сердечной мышц количество крист велико и расположены они плотно. Наоборот, в клетках печени и в сперматидах число внутренних мембран значительно меньше и расположены они реже (рис. 16). Даже в митохондриях одного типа клеток число митохондриальных крист может быть различным. Так, в клетках хорды миноги встречаются две разновидности митохондрий: удлинённые с многочисленными кристами и мелкие овальные с небольшим количеством крист (Schwarz, 1961). В некоторых случаях (митохондрии скелетных мышц, отростков нейрона и сперматид некоторых организмов) кристы могут лежать не поперек, а вдоль длинной оси митохондрии. Иногда [например, некоторые фибробласты мышцы линии L в культуре ткани (Hayward, 1961)] встречаются разветвленные кристы. Своеобразно построены митохондриальные кристы у простейших, у которых внутренние мембраны образуют трубочки, гомологичные кристам митохондрий клеток других организмов (Pappas, Brandt, 1959; В. Ф. Машанский, 1962, и др.). Такая структура крист встречается иногда и в клетках позвоночных животных (например, клетки коры надпочечника крысы и интерстициальные клетки семенников кролика).

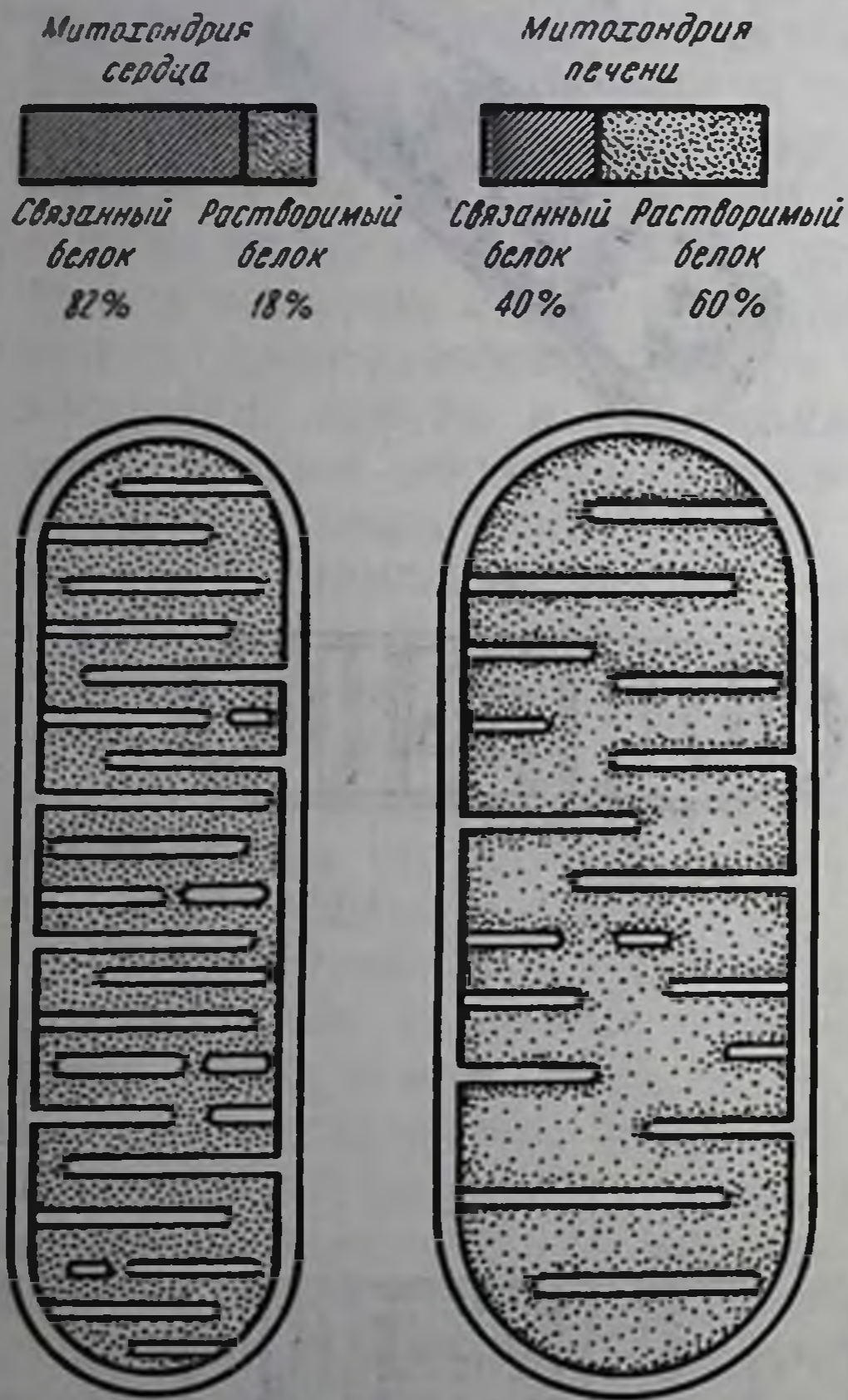


Рис. 16. Сравнительная схема структуры митохондрий миокарда (слева) и печени (справа). В верхней части рисунка показаны отношения содержания связанного и растворимого белка (по Грину, 1953).

Молекулярная организация митохондриальных мембран остается дискуссионной. Полагают, что трехслойная (два осмиофильных слоя, разделенных светлым осмиофобным слоем) структура образована двойным слоем липидных молекул, заключенного между двумя слоями белковых молекул (см. рис. 15). Считают, что при фиксации клеток осмиевой кислотой осмий восстанавливается на белковых слоях, и это обуславливает трехслойную структуру митохондриальных

мембран на электронных микрофотографиях (Sjöstrand, 1953; Sjöstrand, Rhodin, 1953; Ф. Шестранд, 1959).

Такая интерпретация электронномикроскопических картин подтверждается данными, согласно которым, после удаления 90% фосфолипидов и последующей фиксации осмиевой кислотой сохраняется трехслойная ультраструктура митохондриальных мембран (Ball, Joel, 1962).

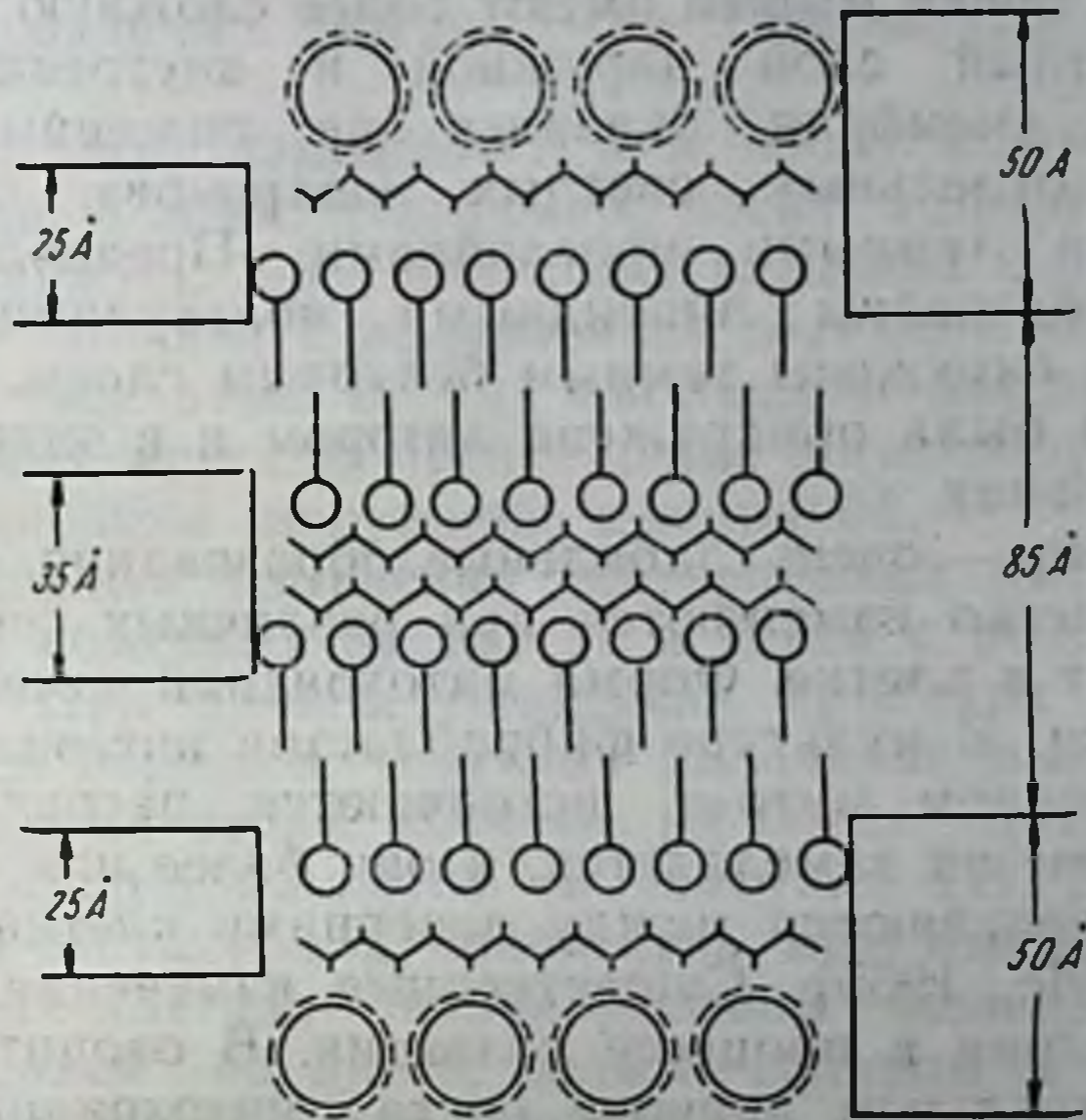


Рис. 17. Схема молекулярной организации митохондриальных мембран (по Шестранду, 1963). Пространственные отношения молекулярных слоев, видимых после фиксации осмием (справа) и перманганатом калия (слева).

Большими кружками изображены молекулы глобулярных белков, изломанными линиями — белковый слой, кружки с палочками — двойной липидный слой.

В дальнейшем при фиксации материала марганцовокислым калием на электронных микрофотографиях была обнаружена пятислойная структура митохондриальных мембран: три плотных слоя были разделены двумя светлыми слоями (Ф. Шестранд, 1963). Сопоставление картин, полученных при разной фиксации, привело к представлению, что митохондриальные мембраны состоят из двух двойных слоев липидов, расположенных между двумя белковыми слоями (рис. 17). В середине мембраны допускалось существование еще одного белкового слоя, который окрашивается при фиксации марганцовокислым калием.

Несмотря на то, что эта модель хорошо объясняет ряд ультраструктурных особенностей митохондриальных мембран, она полностью не решает вопроса и еще неоднократно будет пересматриваться. В последние годы Sjöstrand (1963a, b) уже сообщил о новых уточнениях этой модели. При фиксации марганцовокислым калием и очень высоких разрешениях микроскопа он обнаружил, что митохондриальные мембраны клубок почки мышей имеют более сложную структуру. Средний светлый слой наружной и внутренних митохондриальных мембран оказался не сплошным, а состоящим из отдельных светлых «шариков», отделенных друг от друга темными прослойками. Предполагают, что «шарики» образованы липоидными молекулами, которые с поверхности окружены темным белковым слоем. Аналогичная структура была обнаружена автором и в эндоплазматических мембранах.

Митохондрии — очень лабильные образования. Их форма и структура легко изменяются при различных физиологических процессах в клетке. Форма митохондрий изменяется при делении клетки. В культуре фибробластов нитевидные митохондрии с началом митоза истончаются, распадаются на зерна, движение их замедляется, и они более или менее равномерно распределяются между дочерними клетками (Chevremont, Frederic, 1955). Существенные изменения претерпевают митохондрии в процессе развития. В овоцитах *Folgia papillosa* в начальном периоде роста митохондрии имеют форму палочек, а на более поздних стадиях овогенеза они распадаются на отдельные зерна (Meves, 1915). В процессе роста первичного овоцита кролика в митохондриях увеличивается число митохондриальных крист (Blanchette, 1961). На разных стадиях овогенеза меняются и тинкториальные свойства митохондрий (Montemagno, 1962).

В процессе сперматогенеза этот органоид также претерпевает значительные изменения (Fawcett, 1959; André, 1960). В сперматогониях крысы содержатся многочисленные митохондрии, имеющие форму палочек и обычную ультраструктуру. В сперматоцитах на лептотенной и зиготенной стадии развития число митохондрий увеличивается, они округляются и образуют компактные скопления. Уже на этих стадиях и особенно на пахитенной стадии развития наблюдается уменьшение числа митохондриальных крист, которые деформируются и приобретают волнистую форму. При этом митохондрии все больше приобретают вид вакуоли, заполненной плотным матриксом.

Подобная структура сохраняется и в сперматоидах. В сперматозоидах митохондрии спаиваются между собой, образуя длинные нити.

На разных стадиях индивидуального развития также наблюдаются изменения митохондрий. Так, например, на ранних стадиях развития печени свиньи (зародыш 3 см длины) митохондрии имеют форму зерен, а на более поздних этапах эмбриогенеза (зародыш 11 см длины) они приобретают форму длинных нитей. В процессе развития почки тритона митохондрии последовательно меняют свою форму от мелких гранул до коротких палочек и, наконец, к началу функционирования органа — до вытянутых нитевидных структур.

Митохондрии изменяются и в связи с функциональной активностью клетки. Например, после гипофизэктомии (de Robertis, Sabatini, 1958) или после введения кортизона (Uberberg, 1960) в связи с подавлением функции коры надпочечника в клетках этого органа наблюдали исчезновение митохондриальных крист и превращение митохондрий в пузырьки, ограниченные наружной мембраной.

Существенные изменения претерпевают митохондрии при нарушении обменных процессов в связи с режимом питания животных. При полном голодании кроликов в печеночных клетках и в почечном эпителии палочковидные митохондрии распадаются на зерна, которые на более поздних стадиях набухают и превращаются в вакуоли (Н. Окунев, 1923). Изменения структуры и количества митохондрий наблюдали в ацинозных клетках поджелудочной железы у животных, содержащихся на диете, бедной сахаром и водой (Weiss, 1955). В клетках печени крысы при недостаточности в рационе холина палочковидные митохондрии превращаются в зерна. Их количество и ультраструктура существенно не изменяются (Porta, Hartgrof, Meyer, 1960). Глубокие изменения претерпевают митохондрии при длительном культивировании клеток вне организма. В течение первых недель в культуре ткани митохондрии миобластов куриного зародыша сохраняют обычную структуру. Через 60 дней культивирования в митохондриях значительно увеличивается количество крист, которые располагаются не в поперечном, как обычно, а в продольном направлении (Weissenfels, 1961).

При длительной мышечной работе в латеральных мышцах саранчи наблюдали уменьшение числа митохондриальных крист, которые приобретали форму трубок, а позже распались на пузырьки (Schwalbach, Agostini, 1964).

Лабильность митохондрий отчетливо проявляется и при различных внешних воздействиях на клетку. Разные повреждающие факторы вызывают быструю и однотипную реакцию митохондрий (см. ниже).

Размеры и количество. Размеры митохондрий варьируют в зависимости от их формы. Поперечник митохондрий в сред-

нем равен 0,5 — 1 μ при крайних колебаниях размеров от 0,2 до 2 μ . Длина митохондрий, имеющих форму палочек, достигает максимум 7 μ . Размеры отдельных ультраструктурных компонентов митохондрий варьируют в разных клетках (табл. 4).

Размеры митохондрий могут изменяться в связи с функциональным состоянием клетки, в процессе ее развития и дифференцирования. Так, на ранних стадиях дробления яиц морского ежа размеры митохондрий разных бластомеров одинаковы. На стадии ранней гаструлы митохондрии вегетативной половины становятся крупней, чем анимальной. Вместе с тем первые содержат большее число крист, чем митохондрии анимальной части зародыша (Berg, Long, 1964). Размеры митохондрий изменяются и при некоторых патологических процессах (например, при гипертрофии миокарда и при миопатии).

Таблица 4
Размеры митохондриальных мембран при осмиевой фиксации (в ангстремах) по Ф. Шёстранду (1959)

Объект	Наружная мембрана			Внутренние мембраны		
	общая толщина	толщина осмиофильного слоя	толщина светлого осмиофильного слоя	общая толщина	толщина осмиофильного слоя	толщина светлого осмиофильного слоя
Палочки сетчатки морской свинки	150	55	40	160	60	40
Эпителий почки мыши	170	50	70	190	55	75
Ацинозные клетки поджелудочной железы мыши	140	35	70	170	40	80
Скелетная мышца мыши	170	50	70	220	70	80
Сердечная мышца морской свинки	170	60	60	210	70	70
Кишечный эпителий мыши	170	60	55	210	70	70
Мерцательный эпителий крысы	170	60	55	200	60	70
Бакаловидные клетки трахеи крысы	180	55	70	190	60	70

В цитоплазме содержится большое число митохондрий. В клетке печени крысы имеется, например, около 2500 митохондрий.

Число митохондрий в разных типах клеток различно. Как правило, в клетках с высокой функциональной активностью (например, мотонейроны спинного мозга, скелетная мышца) число митохондрий особенно велико. В этом отношении показательны данные, согласно которым, в грудной мышце хорошо летающих птиц содержится значительно больше митохондрий, чем в той же мышце плохо летающих

птиц (Paul, Sperling, 1952). Наблюдала также увеличение числа митохондрий при секреторной активности клеток слюнной железы мышей (Jungueira, 1951). Подобные изменения происходят, вероятно и при регенерации. В первые сутки регенерации печени, когда функциональная активность клеток поврежденного органа снижена, отмечается уменьшение количества митохондрий (табл. 5). На более поздних стадиях регенерационного процесса, когда развиваются явления функциональной компенсации, количество митохондрий нарастает. Число митохондрий увеличивается также в нейроне при регенерации его аксона. Подобные изменения наблюдали в мотонейронах ядер подъязычного нерва через 10—11 дней после перерезки нервного ствола (Hudson, Lazagow, Hartmann, 1961).

Число митохондрий в клетке изменяется в процессе онтогенеза. В молодых эмбриональных клетках митохондрии обычно более многочисленны, чем в стареющих клетках. Пока недостаточно изучена связь между количеством митохондрий и дифференцированием клетки. В процессе дифференцирования клеток личинки морского ежа наблюдали увеличение числа митохондрий (Gustafson, Leningue, 1952). Вместе с тем известны данные (Cowdry, 1917) об уменьшении и постепенном исчезновении митохондрий в дифференцирующихся эритроцитах костного мозга кролика. Учитывая известные особенности эритроцитов (утрата ядра и митохондрий), можно предполагать, что процесс дифференцирования этой клетки является скорее исключением, чем правилом.

Значительно варьирует число митохондрий в опухолевых клетках. Оно бывает различным не только в опухолях разного типа, но даже в разных клетках одной опухоли. Чаще в связи с общим дедифференцированием опухолевой клетки наблюдают большее или меньшее уменьшение в них количества митохондрий.

Локализация. Во многих клетках митохондрии распределены довольно равномерно по цитоплазме. Однако в ряде клеток отмечается отчетливая тенденция митохондрий к локализации в определенной области. В полярно дифференцированных клетках митохондрии располагаются преимущест-

Таблица 5
Количество митохондрий в клетках печени (по Allard, de Lamirande, Cantero, 1952, 1953)

Объект	Число митохондрий на клетку
Печень крысы	2,554
Гепатома	1,391
Регенерирующая печень (1-й день)	1,800
Регенерирующая печень (20-й день)	2,150

венно вдоль физиологической оси клетки, по которой происходит обмен веществ с окружающей средой (апикально-базальное направление). Так, в кишечном эпителии митохондрии расположены вдоль оси, идущей от апикального к базальному полюсу клетки, и сосредоточиваются преимущественно в апикальной части клетки — области всасывания веществ из полости кишечника. В железистых клетках слюнных желез и в почечном эпителии митохондрии также лежат вдоль физиологической оси, сосредоточиваясь в базальной части клетки — области поступления веществ в эти клетки. В клетках печени митохондрии лежат вдоль оси, соединяющей желчную и капиллярную поверхности.

Вообще наблюдается тенденция митохондрий к локализации в функционально наиболее активных зонах клетки. Так, например, в палочках сетчатки митохондрии расположены во внутреннем членике у фоторецепторного конца клетки. В сперматозоидах митохондрии сосредоточены в шейке — области, где начинается жгутик, являющийся двигательным аппаратом этой клетки. В мышечных волокнах насекомых митохондрии расположены между миофибриллами, сосредоточиваясь вокруг дисков I. Корреляция между локализацией митохондрий и активными зонами цитоплазмы связана, вероятно, с ролью этого органоида в дыхании и энергетике клетки. Локализация митохондрий может претерпевать изменения в процессе онтогенеза. Так, например, в клетках печени эмбрионов курицы (8—14 дней насиживания) 22% всех митохондрий сосредоточено в околядерной области, тогда как у взрослых организмов в этой зоне расположено лишь около 6% митохондрий (North, Pollak, 1961). Эти изменения локализации органоида связывают с особенностями обмена растущих клеток и, в частности, с участием ядра и митохондрий в синтезе никотинамидадениндинуклеотидов.

Методы выявления и прижизненные наблюдения. Для выявления митохондрий на фиксированном препарате используют формолхромовые или хромово-осмиевые фиксирующие смеси (смеси Шампи, Бенсли, Рего, Кольстера и др.) Наиболее распространенными методами окраски являются железный гематоксилин и кислый фуксин по Альтману. Первый из этих красителей дает более постоянные результаты, а второй рассматривается как наиболее специфический, классический способ выявления митохондрий.

В отличие от многих других компонентов клетки митохондрии хорошо видны в живой клетке. Для прижизненного изучения этих структур применяют суправитальное окрашивание зеленым янусом, который первоначально окрашивает митохондрии в зеленовато-синий цвет, а затем, восстано-

ливаясь, придает органоиду малиновую окраску. Механизм витального окрашивания зеленым янусом заключается в его восстановлении и последующем окислении дыхательными ферментами митохондрий. Митохондрии, лишенные набора своих окислительно-восстановительных ферментов, не окрашиваются зеленым янусом.

«Митохондрии обладают одним положительным качеством: они действительно существуют» (Ж. Браше, 1960).



Рис. 18. Митохондрии и включения в живых фибробластах. Культура ткани. Темное поле микроскопа.

Действительно, митохондрии хорошо видны в живой клетке, и в отношении этих структур исключается коварный вопрос о реальности органоида, который часто поднимается в отношении некоторых других внутриклеточных структур. Для витальных наблюдений митохондрий лучшие результаты дает микроскопирование в темном поле или в фазовоконтрастном устройстве (рис. 18).

Витальные наблюдения позволили обнаружить движение митохондрий в клетке. Митохондрии в живой клетке претерпевают либо незначительные колебательные движения, либо перемещаются по цитоплазме из одной части клетки в другую и при этом своеобразно змеевидно изгибаются. В процессе движения митохондрии могут распадаться на части или, наоборот, временно соединяться между собой. Движение митохондрий замедляется во время митотического деления. Перемещение митохондрий тормозится при воздействии

на клетку наркотиков. Наоборот, оно ускоряется после прибавления к окружающей среде АТФ или кофермента А. Механизм и значение движений митохондрий пока неясны.

Химический состав. Биохимической характеристике митохондрий посвящены специальные обстоятельные обзоры, недавно опубликованные в отечественных изданиях (О. Линдберг, Л. Эрнстер, 1957; Д. Хогебум, В. Шнейдер, 1957; Д. Е. Грин, 1961, 1962, и др.), и поэтому мы ограничимся лишь краткими общими данными, важными для понимания структуры и функции этого органоида.

Таблица 6
Элементарный химический состав митохондрий

Элементы	Содержание (в % сухого веса)
Азот	10,0—12,24
Фосфор	0,82—1,88
Сера	0,69—1,16
Углерод	50,4—54,5
Водород	7,8—8,1
Железо	0,02—0,04
Медь	0,02—0,035

Элементарный химический состав митохондрий (табл. 6) характеризуется высоким содержанием азота, углерода, фосфора и водорода, которые входят в состав липопротеидов, образующих митохондрии. Содержание железа и меди обусловлено присутствием дыхательных ферментов (цитохромов), в состав которых входят эти элементы. Сера, содержащаяся в митохондриях в относительно больших количествах, включена в сульфгидрильные группы белков (ферментов) органоида. Гистохимическими ис-

следованиями было установлено, что митохондрии дают положительную реакцию на сульфгидрильные группы (нитропруссидная реакция и реакция Барнетта и Зелигмана).

Митохондрии состоят главным образом из белков, липидов и, по-видимому, из небольшого количества РНК. Содержание белка в митохондриях составляет 65—70% сухого веса. Их химическая характеристика изучена недостаточно. Часть белков митохондрий связана с ультраструктурами митохондрий, а другая часть белков при разрушении органоида быстро переходит в раствор. Содержание «связанного» и «растворимого» белков варьирует в митохондриях разного типа. В митохондриях с большим числом крист (сердечная мышца), соответственно субмикроскопической организации, содержание «связанного» белка (82%) значительно выше, чем «растворимого» белка (18%). Наоборот, при слабом развитии митохондриальных крист (клетки печени) содержание «связанного» белка (40%) ниже, чем «растворимого» (60%) белка (Д. Е. Грин, 1961). Химическими анализами белков митохондрий было показано, что почти 50% аминокислот структурного белка органоида имеет неполярную боковую цепь. Структурный белок митохондрий содержит срав-

нительно немного аспарагиновой и глутаминовой аминокислот (18%).

Липиды митохондрий составляют 25—30% сухого веса и представлены главным образом фосфолипидами (лецитин — 41%, кефалин — 33%, кардиолипин — 15%, фосфатидил-инозитол — 8%). Липиды митохондрий отличаются от других цитоплазматических липидов не только своим химическим составом, но и степенью растворимости.

Что касается содержания в митохондриях нуклеиновых кислот, то этот вопрос до сих пор остается дискуссионным. Одни авторы отмечают наличие в митохондриях сравнительно большого количества РНК. Другие либо не обнаруживают РНК, либо находят лишь ее следы. Сложность решения этого вопроса связана с трудностями очистки митохондриальной фракции и полного освобождения ее от микросомной фракции (см. главу VI), богатой РНК. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что по мере совершенствования техники фракционирования и освобождения препаратов митохондрий от «микросом» получают все более низкие величины содержания РНК в митохондриях. По-видимому, митохондрии содержат РНК в незначительных количествах, не превышающих 0,5% сухого веса. Методом электронномикроскопической цитохимии в наружной мембране митохондрий мышцы, селезенки и мозга был выявлен гликоген (Themann, 1960).

В состав митохондрий входит ряд витаминов и коферментов. В них были найдены витамины А, В₆, В₁₂, К, Е, фолиевая и пантотеновая кислоты, рибофлавин и кофермент А.

Наиболее характерной особенностью митохондрий является содержание в них большого числа ферментных систем, участвующих в дыхании клетки. Цитохромоксидаза и сукцинатдегидрогеназа целиком сосредоточены в митохондриях. Другие ферменты цепи переноса электронов содержатся в митохондриях в больших количествах (НАДФ- и НАД-цитохром-с-редуктазы), хотя обнаруживаются и в других компонентах клетки (мембраны эндоплазматической сети и комплекса Гольджи).

В митохондриях содержится ряд ферментов цикла трикарбоновых кислот (сукцинатдегидрогеназа, фумаратгидрогеназа, 2-оксоглутаратдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, глутаматдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа). По данным Сгеен (1951), в митохондриях сосредоточен весь набор ферментов, катализирующих реакции превращения промежуточных продуктов в цикле Кребса. Однако имеются данные о локализации некоторых из этих ферментов (изоцитратдегидрогеназа и аконитазы) в других компонентах клетки, и цикл Кребса рассматривается как сложный биохимический

механизм, осуществляющийся при участии различных внутриклеточных структур (Д. Хогебум, В. Шнейдер, 1957). В митохондриях содержится также ряд ферментов (аденилаткиназа, аденозинтрифосфатаза), участвующих в сопряженном с дыханием фосфорилировании. В митохондриях почти целиком сосредоточены ферменты, катализирующие синтез п-аминогиппуровой кислоты.

При анализе данных о химическом составе митохондрий необходимо учитывать, что большая их часть получена на изолированных митохондриях, выделенных из гомогенатов клеток путем фракционного центрифугирования. Этот метод, давший основные сведения о химии внутриклеточных структур, сопряжен с рядом источников ошибок (разрушение структур, трудности очистки фракции, нарушения физиологических взаимоотношений между ферментом и субстратом и др.). Однако ряд биохимических данных удалось подтвердить на интактной клетке, используя гистохимические методы. В митохондриях были выявлены сукцинатдегидрогеназа (метод с нитро-синим тетразолием по Нахласу), аденозинтрифосфатаза (кальциевый метод по Метвин — Девису и по Падикула и Герману), липоамиддегидрогеназа и НАДФ-диафораза (метод с нитро-синим тетразолием), цитохромоксидаза (метод с N-фенил-п-фенилендиамином по Берстону).

Особый интерес представляет биохимическая топография ферментных систем. Так как речь по существу идет о химической характеристике ультраструктур отдельных компонентов клетки, т. е. о молекулярной морфологии, то совершенно ясно, насколько эта область сложна. Мы делаем в ней лишь первые робкие шаги. Попытки локализовать ферменты на ультраструктурах митохондрий предпринимались в двух направлениях: во-первых, были разработаны методы электронной цитохимии, допускающие возможность определять топографию химических веществ в ультраструктурах на интактной клетке, а во-вторых, были использованы обычные биохимические методы исследования для изучения свойств отдельных фрагментов разрушенных митохондрий. Каждое из этих направлений имеет свои достоинства и свои недостатки.

Электронномикроскопические исследования (окраска препаратов теллуридом калия или нитро-синим тетразолием) показали, что сукцинатдегидрогеназа локализована в наружной мембране и преимущественно в кристах митохондрий (Barnett, 1957; Sedar, Rosa, 1958; Barnett, Palade, 1958; Nelson, 1959; Scarpelli, 1961), либо в пространстве между темными слоями митохондриальных крист (Sedar, Rosa, 1961). НАД · H₂-цитохром-с-редуктаза (окраска нитро-синим тетразолием) также локализована в кристах и в наружной

мембране митохондрий (Scarpelli, 1961). Реакция с азотно-кислым свинцом по Вахштейну и Мейзелю на аденозинтрифосфатазу (рис. 19) позволила локализовать этот фермент преимущественно на кристах митохондрий (Otero-Vilardebo, Lane, Godman, 1963; Ashworth, Lwibel, Stewart, 1963, и др.). В кристах митохондрий локализована также глюкозо-1-фосфатаза (Mölbart, Deimling, Duspiva, 1960).

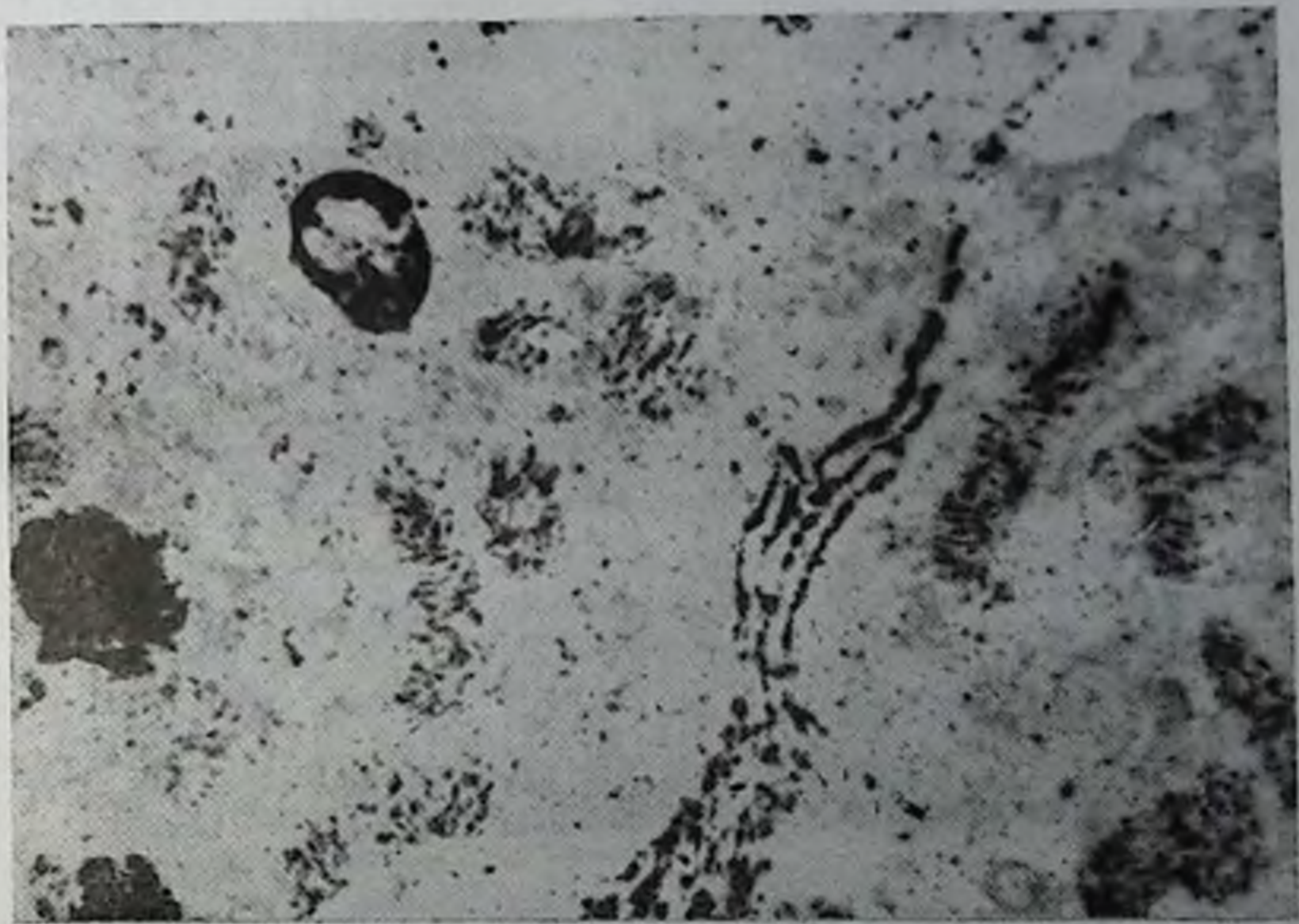


Рис. 19. Локализация аденозинтрифосфатазы на кристах митохондрий эпителия кишечника крысы. Реакции с азотнокислым свинцом. Электронная микрофотография (по Otero-Valardebo, Lane, Godman, 1963).

Эти данные дополняют биохимические исследования на интактных изолированных митохондриях и их фрагментах. Изучение синтеза гиппуровой кислоты и фосфолипидов в митохондриях с разным числом крист показало, что интенсивность этих процессов обратно пропорциональна числу крист в митохондриях. Они более интенсивны в митохондриях, обладающих относительно небольшим количеством крист (клетки печени), и менее значительны в митохондриях с плотным расположением крист (сердечная мышца). Эти наблюдения позволяют предполагать, что ферменты, с которыми в митохондриях связан синтез белка, фосфолипидов и жирных кислот, локализуются в матриксе митохондрий между кристами (Д. Е. Грин, 1961). Иные данные были получены в отношении активности системы цитохромов (Mattis-

son, Birch-Andersen, 1962). На митохондриях мышц различных беспозвоночных было обнаружено, что митохондрии с большим числом крист богаче цитохромами, чем митохондрии с малым количеством крист.

Эксперименты с препаративным разрушением митохондрий (ультразвуком, замораживанием и оттаиванием, химическими воздействиями) показывают, что по мере разрушения отдельных ультраструктур митохондрий они постепенно утрачивают свои биохимические свойства (Д. Е. Грин, 1961; Lioget, 1962). Фрагменты митохондрий, в которых нарушено

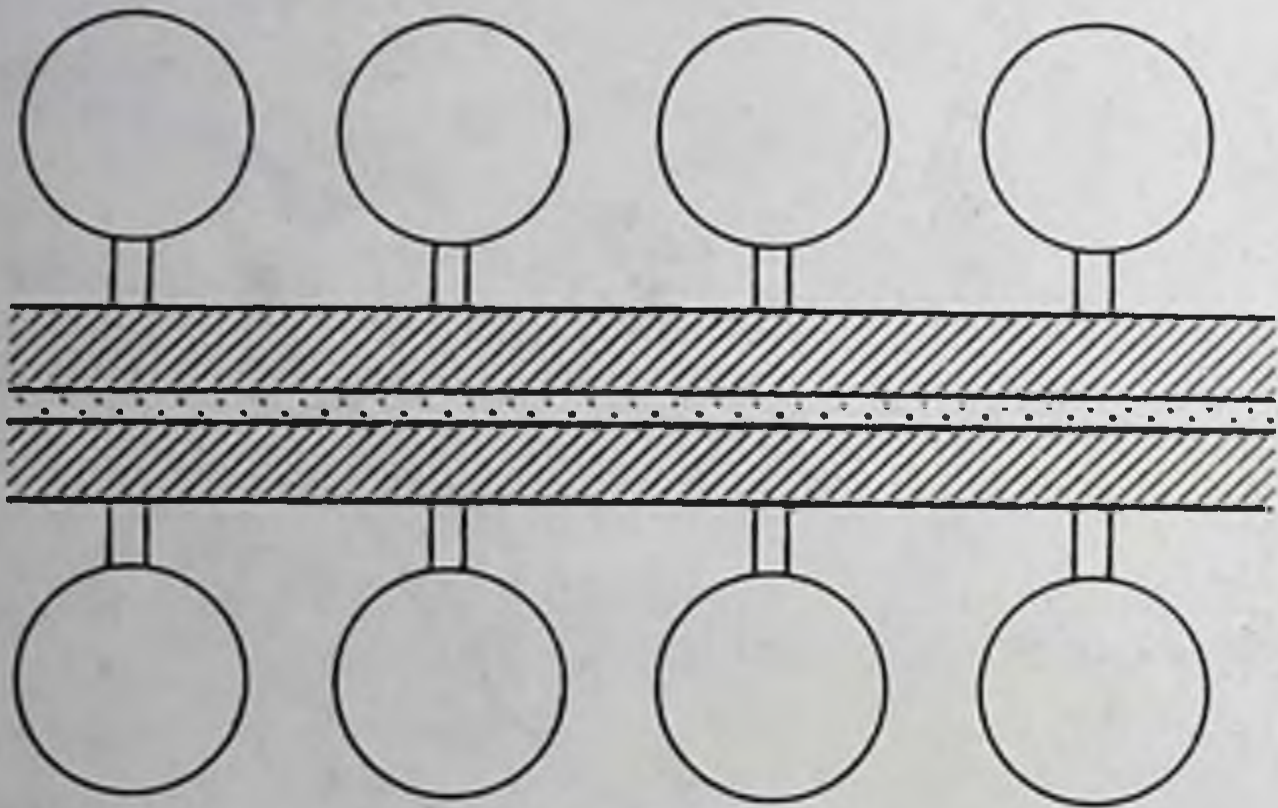


Рис. 20. Элементарные субмитохондриальные частицы митохондрий (по Green, Fleischner, 1963).

правильное расположение и нормальная структура крист, но еще сохранена наружная оболочка, утрачивают способность к окислению субстратов в цикле трикарбоновых кислот, хотя еще сохраняют способность к окислению НАД·Н₂ и сукцината и к окислительному фосфорилированию. Предполагают, что ферменты трикарбонового цикла каким-то образом связаны с митохондриальными кристами, и правильная их ориентация обеспечивает последовательность процессов в этом цикле.

Частицы митохондрий, состоящие лишь из одной наружной мембраны, но лишенные крист или вообще не имеющие трехслойных мембран, утрачивают способность к окислительному фосфорилированию, но сохраняют еще способность к окислению НАД·Н₂ или сукцината.

Как известно, система переноса электронов в клетке состоит из двух сообщающихся, но отдельных цепей: одна из них осуществляет окисление сукцината, а вторая окисление НАД·Н₂. По данным Д. Е. Грина, обе ферментативные системы переноса электронов в виде отдельных функциональных единиц расположены парами поперек митохондриальных

мембран. Последующими электронномикроскопическими и биохимическими исследованиями (Fernandez-Moran, 1962; Green, Fleischner, 1963; Stasny, Crane, 1964) было показано, что ферменты электронно-транспортной цепи сконцентрированы в сферических тельцах, расположенных в темных

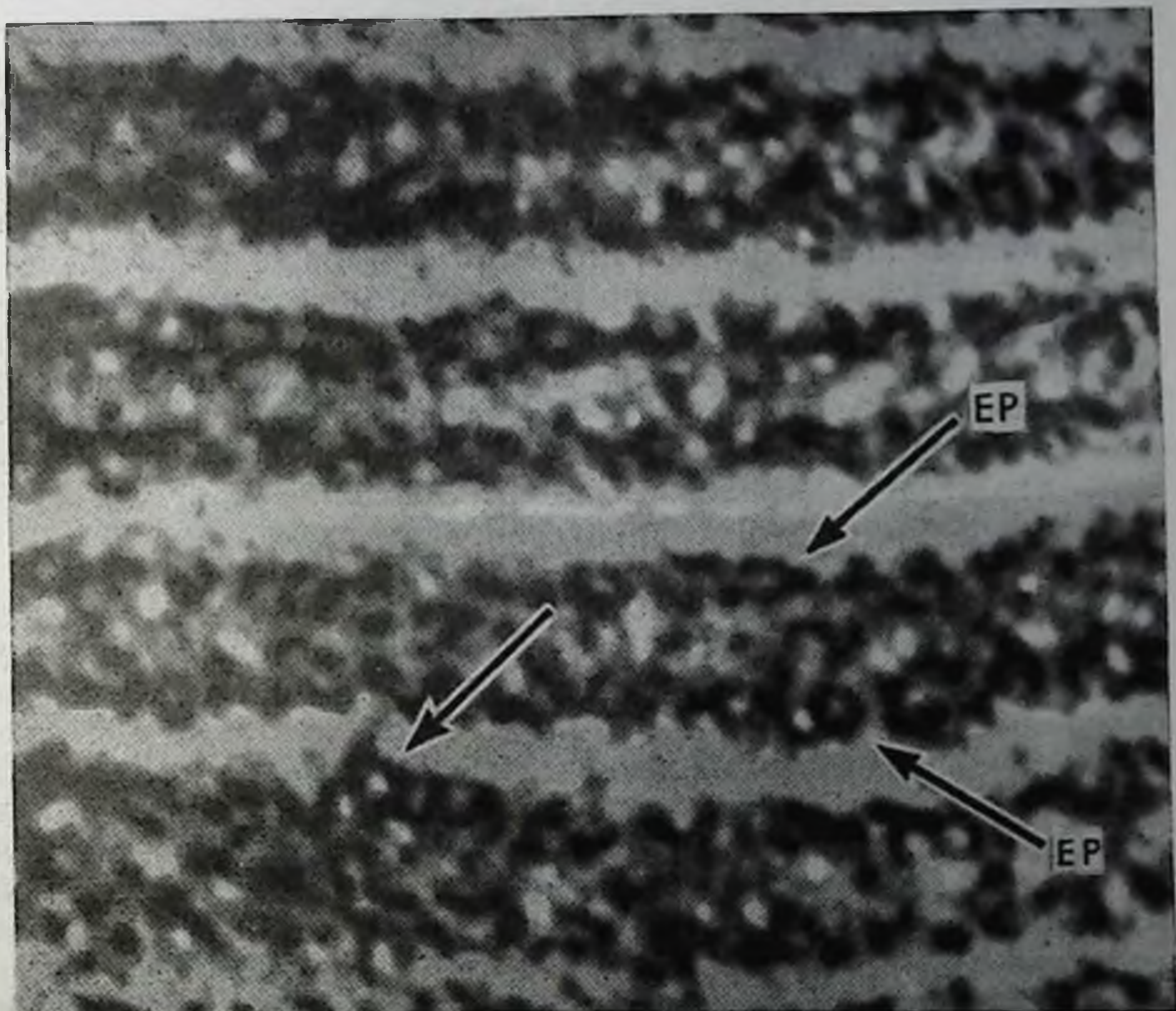


Рис. 21. Электронная микрофотография «элементарных субмитохондриальных частиц» (EP) в кристах митохондрий из миокарда. Фиксация перманганатом калия (по Fernandez-Moran, 1962).

осмиофильных слоях внутренней и наружной митохондриальной мембран. Эти частицы имеют в диаметре 80—100 Å и короткой ножкой (30—50 Å) связаны со светлым слоем митохондриальной мембраны (рис. 20, 21). Так как из этих частиц были выделены основные ферменты цепи переноса электронов в более высокой концентрации, чем из всей митохондрии, их рассматривают как «элементарные субмитохондриальные частицы», являющиеся простейшим структурным и функциональным элементом митохондрии. Комплекс ферментов цикла трикарбоновых кислот также упорядочен

в определенные системы, каждая из которых соответствует отдельной цепи переноса электронов, расположена вне их, но тесно примыкает к тем участкам крист, в которых находятся соответствующие цепи переноса электронов. Быть может, в дальнейшем разрешить этот вопрос поможет изучение тех лабильных сферических частиц, которые связаны с кристами и были обнаружены Stoeckenius при негативном окрашивании (стр. 56).

Биохимическая характеристика митохондрий различных клеток, так же как и морфологическая, обладает общими чертами. Митохондрии простейших, растительных клеток, а также клеток печени, почки, нейронов, мышечных волокон млекопитающих, амфибий, насекомых и даже дыхательные гранулы бактерий обладают общими химическими свойствами. Вместе с тем митохондрии разных клеток имеют и свои особенности. Так, например, содержание белка неодинаково в митохондриях головного мозга разных позвоночных животных и возрастает в следующем ряду: лягушка — черепаха — курица — крыса (Whabe, Balfour, Samson, 1961). Обнаружены также различия характера жирных кислот в митохондриях клеток рыб, морских птиц и млекопитающих (Richardson, Tappel, Smith, Houle, 1962). Наблюдаются различия в активности некоторых ферментов митохондрий разных клеток. Митохондрии нейронов мозга обладают более высоким содержанием НАД · Н₂-цитохром-с-редуктазы, чем митохондрии печени тех же животных. Содержание цитохромов в митохондриях сердца морских рыб и птиц выше, чем в клетках печени. Митохондрии молочной железы морской свинки обладают более низкой глутамико-дегидрогеназной активностью, чем митохондрии печени тех же животных (Jones, Gutfreund, 1961).

Содержание и активность митохондриальных ферментов изменяются в процессе развития, при изменениях состава среды и при разном функциональном состоянии клетки. Гистохимически было обнаружено, что при раздражении нейронов в их митохондриях увеличивается активность сукцинатдегидрогеназы, обусловленная, вероятно, повышением проницаемости митохондриальных мембран (В. В. Португалов и др., 1961).

При голодании лягушек наблюдали снижение активности цитохромоксидазы в митохондриях эпителия почки, причем кристы приобретали продольное расположение (Kagnovsky, 1962). В условиях голодания в митохондриях печени, почек и миокарда крыс также отмечали снижение активности НАД · Н₂-цитохром-с-редуктазы и содержания фосфолипидов (Iacobasch, Wagenknecht, 1963). Окислительное фосфорилирование в митохондриях молочной железы морской свинки

изменяется в периоды беременности, лактации и обратного развития железы (Nelson, Buton, Ciaccio, 1962).

Функции. Успехи, достигнутые в изучении биохимии митохондрий, позволили понять многие функции этого органоида.

Благодаря содержанию ферментов системы переноса электронов, цикла трикарбоновых кислот и фосфорилирования митохондрии служат основной энергетической станцией клетки. Ими осуществляется окисление углеводов, ряда аминокислот, жирных кислот, а также некоторых веществ (холин), распад которых происходит независимо от механизмов трикарбонового цикла. Энергия, которая освобождается при переносе электронов, непосредственно не используется работающей клеткой, а предварительно аккумулируется на макроэргических фосфатных связях АТФ. Этот процесс окислительного фосфорилирования и снабжения клетки энергией также связан с митохондриями. Митохондрии — основная «силовая станция» клетки, в которой продуцируется энергия, используемая в процессах синтеза и рабочей активности клетки (секреция, движение, рост и др.).

Значение митохондрий для клеточного дыхания подтверждает ряд наблюдений. Выше мы уже отмечали, что ферменты клеточного дыхания либо целиком, либо преимущественно сосредоточены в митохондриях. Различные воздействия на этот органоид неизбежно нарушают дыхание клетки. Например, при окрашивании клеток в культуре ткани флюоресцирующим веществом — берберинном, избирательно адсорбирующемся на наружной мембране, снижается интенсивность поглощения клетками кислорода (М. Н. Мейсель, 1950). Аналогичный эффект наблюдают при центрифугировании живой клетки, когда митохондрии смещаются к ее центробежному полюсу и таким образом отделяются от субстратов окисления. Набухание митохондрий при их повреждении (см. ниже) неизбежно сопровождается снижением поглощения клеткой кислорода.

Имеются данные о зависимости интенсивности дыхания от числа митохондрий в клетке. Так, при дроблении яиц морского ежа были обнаружены ритмические колебания количества митохондрий в бластомерах: максимум их отмечался в интерфазе, а минимум — во время митоза (Agrell, 1955). Параллельно на том же объекте были отмечены аналогичные небольшие колебания клеточного дыхания (Zeuthen, 1955). Наиболее демонстративные данные были получены на изолированных митохондриях. Рядом авторов было показано, что при добавлении к свежесодержанным митохондриям субстратов, НАД, цитохрома с и магния они могут осуществлять окисление и окислительное фосфорилирование.

Функция дыхания не является исключительной прерогативой митохондрий. Вообще, по-видимому, не существует монополии одного органоида на осуществление той или другой клеточной функции. Любое проявление функциональной активности клетки является результатом согласованной работы ее взаимосвязанных компонентов. Ниже на примере секреции мы рассмотрим принцип «конвейера», в котором связаны внутриклеточные структуры, участвующие в синтетической деятельности клетки (стр. 128). Вероятно, этот принцип сохраняется также в процессах дыхания и продукции энергии в клетке. Отмечая главную роль митохондрий в клеточном дыхании, необходимо учитывать участие в этом процессе (поставка субстратов и веществ, которых в митохондриях недостаточно) цитоплазмы и других компонентов клетки. Наконец, необходимо проанализировать возможность генетического контроля над дыханием клетки. В этом отношении интересен полученный Eprhussi и сотрудниками цитоплазматический мутант дрожжей («petites»), митохондрии которого были лишены дыхательных ферментов (Eprhussi, 1953).

Наряду с окислительным фосфорилированием в митохондриях происходит синтез компонентов, необходимых для деятельности самого органоида. В них осуществляется синтез гиппуровой кислоты, фосфолипидов и белков (цитохрома с). При наличии необходимых аминокислот и источника энергии изолированные митохондрии способны синтезировать белок. На свежесыделенном органоиде или на его фрагментах наблюдали включение меченых аминокислот в митохондриальные белки (Das, Roy, 1961; Roodyn, Reis, Work, 1961, и др.).

В старой литературе неоднократно приводились данные об участии митохондрий в различных морфогенетических процессах. Эти данные послужили основанием для названия органоида «пластосомами». До сих пор можно встретить описания прямого превращения митохондрий в нейрофибриллы, в миофибриллы и в секреторные гранулы. В большинстве случаев в основе этих наблюдений лежат артефакты. Вместе с тем не подлежит сомнению участие митохондрий как энергетической станции клетки в различных морфогенетических, синтетических процессах и других клеточных функциях.

Развитие и восстановление. Продолжительность жизни митохондрий невелика. Для клеток печени она составляет около 20 дней (Fletcher, Sapadi, 1961). На смену разрушающимся митондриям возникают новые. Существует два мнения о путях восстановления этого органоида: новообразование и деление предсуществующих структур. Первая возможность подтверждается данными Harvey (1946), изучав-

шей развитие фрагментов яиц морского ежа, которые путем центрифугирования до оплодотворения были освобождены от митохондрий. В клетках личинок, образовавшихся из таких фрагментов, были обнаружены новообразованные митохондрии. Аналогичные результаты были получены при разрушении митохондрий эпителия почки мыши путем инъекций сывроточного альбумина (Zollinger, 1950).

Проследить последовательные стадии новообразования митохондрий пока не удалось. В нейронах кролика в качестве одной из ранних стадий формирования митохондрий были описаны «темные тельца», представляющие собой скопление осмиофильных гранул, которые в дальнейшем окружаются мембраной (Hudson, Hartmann, 1961). На более поздних стадиях в таких тельцах развиваются типичные митохондриальные кристы. Авторы предполагают, что «темные тельца» возникают из участков эндоплазматической сети. Имеются также данные об образовании митохондрий из цитоплазматических пузырьков, возникающих из плазматической оболочки (Schjeide и др., 1962, 1963) или цистерн эндоплазматической сети (André, 1962).

В связи с различными биохимическими свойствами мембран митохондрий, плазматической и эндоплазматических мембран непосредственное превращение последних в первую трудно себе представить. Во всяком случае, если это и бывает, то такая трансформация должна сопровождаться химической перестройкой соответствующих мембран с синтезом специфических белков, фосфолипидов и компонентов системы переноса электронов.

Деление митохондрий осуществляется путем почкования. Рядом авторов (David, 1962; Zuck, 1963; Maltzahn, Mühlet-halter, 1962, и др.) описывалось образование выпячивания наружной митохондриальной мембраны, которое постепенно отшнуровывалось от материнской митохондрии. Одновременно в формирующемся выпячивании происходило образование крист и осмиофильных гранул.

Патология. Выше были приведены данные об изменении структуры митохондрий при различных физиологических процессах, свидетельствующие о чрезвычайной лабильности этого органоида. Еще более значительные изменения претерпевают митохондрии при различных внешних воздействиях на клетку. Структура митохондрий претерпевает глубокие изменения при сдвигах осмотического давления и концентрации водородных ионов. На клетках печени аксолотля (Н. Н. Аничков, 1923) и фибробластах куриного эмбриона в культуре ткани (А. В. Румянцев, 1932) было обнаружено, что в гипотонической среде палочковидные митохондрии распадаются на зерна, которые, набухая, превращаются в пу-

зырьки. Отграничивающая их оболочка первоначально окрашивается зеленым янусом, а затем перестает воспринимать специфический краситель. В гипертонической среде митохондрии приобретают вид длинных нитей, которые позже также распадаются на гранулы. Эти старые наблюдения были подтверждены электронномикроскопическими исследованиями последних лет на изолированных митохондриях гепатопанкреатической железы краба (Munday, Thompson, 1962).

Аналогичные изменения претерпевают митохондрии фибробластов в культуре ткани и при изменении концентрации водородных ионов в среде. При сдвигах реакции в кислую (рН 5,5—5,0) или в щелочную (рН 8,0—9,6) сторону митохондрии распадаются на отдельные зерна, которые, набухая, превращаются в пузырьки.

Многочисленными исследованиями последних лет было показано, что на различные повреждающие воздействия митохондрии отвечают однотипной реакцией, выражающейся в набухании. При этом отмечают увеличение объема митохондрий, разжижение матрикса, укорочение и уменьшение числа крист, образование складок наружной мембраны. В конечном итоге митохондрии превращаются в пузырьки, ограниченные наружной мембраной (рис. 22). Подобные изменения были прослежены при самых различных воздействиях: после введения ядов, солей тяжелых металлов и наркотиков (Fawcett, 1955; Lever, 1956; Rouiller, Bernhard, 1956; Bassi, 1960; К. Лапшин, Ф. Губа, 1963, и др.), тироксина (Lehninger, Ray, Schneider, 1959; Lehninger, 1961; Sprites, Guth, 1961; Roche, Rall, R. Michel, O. Michel, Varrone, 1962, и др.), декстрана (Gabler, 1961), пониженного осмотического давления (Sprites, Guth, 1961), повышенной температуры (В. Ф. Машанский, 1961; Neubert, Foster, Lehninger, 1962), рентгеновского облучения (Hogi, Mochizuki, Fujino, 1961) и многих других факторов.

В связи с универсальным характером реакции митондрий процессы их набухания и сжатия привлекли пристальное внимание многих исследователей.

Анализ обширной литературы, посвященной этой проблеме, убеждает, что в основе набухания митондрий лежат два механизма: пассивное осмотическое проникновение воды через полупроницаемую наружную митондриальную мембрану и активный ферментативный перенос через нее воды. Хорошей иллюстрацией первого механизма могут служить опыты с хлорпромазином (Sprites, Guth, 1961). Этот препарат в концентрациях, не изменяющих активности дыхательных ферментов, вызывает сжатие набухших митондрий, действуя на проницаемость митондриальной мембраны.

Многочисленными исследованиями ультраструктуры или объема (оптической плотности) митохондрий и параллельно активности дыхательных ферментов (или поглощения кис-

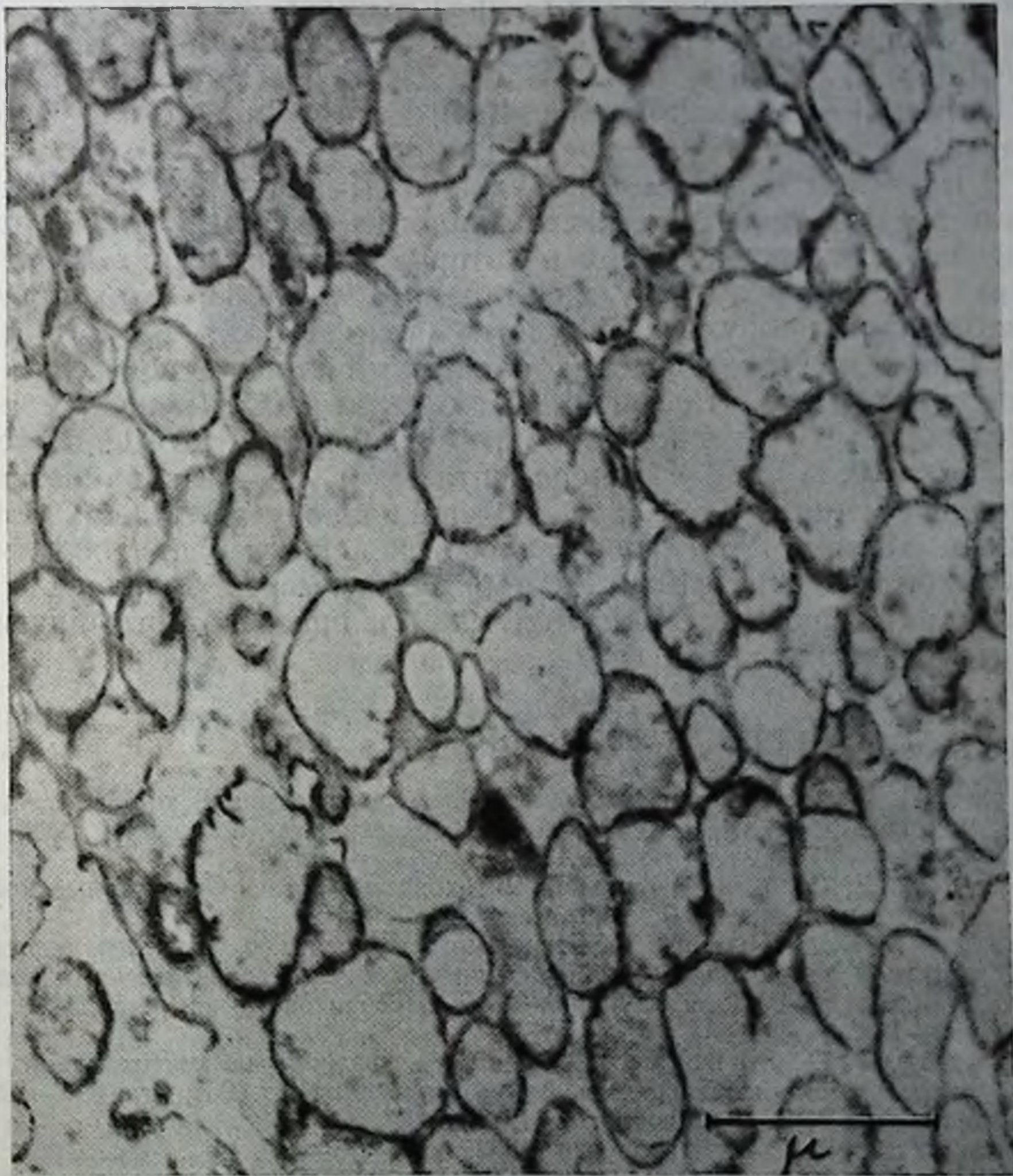


Рис. 22. Набухание митохондрий при гипернефроме человека (по Оберлингу и Бернхарду, 1963).

лорода) было показано, что набухание митохондрий связано с изменениями интенсивности дыхания (Packer, 1961, 1962; Hori, Fujino, 1961; Munday, Thompson, 1962). Хотя полученные данные не всегда были однозначны, как правило, факторы, вызывавшие набухание митохондрий, одновременно изменяли интенсивность поглощения митохондриями кисло-

рода и активность окислительно-восстановительных ферментов. Активный механизм набухания митохондрий подтверждают эксперименты, в которых воздействие ингибиторов дыхания (цианид, азид натрия, динитрофенол, антимицин А, амитал, олигомицин и др.) предохраняет митохондрии от набухания после различных повреждающих воздействий (Chappell, Greville, 1961; Gayet, 1961; Packer, 1961; 1962; Neubert, Foster, Lehninger, 1962; В. Ф. Машанский, 1962, и др.).

Изучение механизма набухания митохондрий особенно интересно в связи с тем, что аналогичные изменения претерпевает этот органоид при некоторых патологических процессах. Набухание, утрату крист и вакуолизацию митохондрий наблюдали в опухолевой клетке, при развитии мутного набухания, при аноксических и автолитических процессах в нейронах мозга (Becker, 1961), в сердечной мышце при гипертрофии и недостаточности миокарда (Wollenberger, Schulz, 1961), при экспериментальном нефрозе в клетках почки (Ericson, 1962), при обтурационной желтухе (Caggitheg, Steiner, 1962), при валлеровской дегенерации нервных волокон (Webster, 1962), при ортостатическом коллапсе в клетках Пуркинье (Niklowitz, 1962) и при некоторых других патологических процессах.

ЛИТЕРАТУРА

- Грин Д. Е. Структура и функция субклеточных частиц. В кн.: V Международный биохимический конгресс. Пленарные заседания, 1962, 5, 7—36.
- Грин Д. Е. Строение и функция митохондрий. В кн.: Структурные компоненты клетки. ИЛ, 1962, стр. 78—101.
- Лапшин К., Губа Ф. Электронномикроскопическое изучение клеток асцитной лимфомы, леченной различными химиотерапевтическими агентами. Труды VIII Международного противоракового конгресса, 1963, 6, 150—152.
- Линдберг О., Эрнстер Л. Химия и физиология митохондрий и микросом. В кн.: Проблемы цитофизиологии. ИЛ, 1957, стр. 111—225.
- Машанский В. Ф. Цитология, 1961, 3, 5, 586—591.
- Машанский В. Ф. Цитология, 1962, 4, 4, 445—449.
- Машанский В. Ф. Цитология, 1962, IV, 5, 555—558.
- Машанский В. Ф. Цитология, 1964, 6, 3, 275—286.
- Мейсель М. Н. ДАН СССР, 1950, 70, 1065.
- Окунев Н. Arch. mikr. Anat., 1923, 97, 187—203.
- Португалов В. В., Герштейн Л., Торчинский Ю. Folia morphol., 1961, 12, 2—3, 137—146.
- Румянцев А. В. Культуры тканей вне организма и их значение в биологии. Медгиз, 1932.
- Хогбум Д., Шнейдер В. Цитоплазма. В кн.: Нуклеиновые кислоты. Т. 1—2. ИЛ, стр. 102—141.
- Шёстранд Ф. Ультраструктура клеток, наблюдаемая в электронном микроскопе. В кн.: Вопросы электронной микроскопии тканей. ИЛ, 1959, стр. 9—66.

Шёстранд Ф. Морфология упорядочных биологических структур. В кн.:
Функциональная морфология клеток. ИЛ, 1963, стр. 68—85.

- Agrell J. *Exp. Cell Res.*, 1955, 8, 1, 232—234.
Allard C., de Lamirande G., Cantero A. *Cancer. Res.*, 1952, 12,
580—582.
Allard C., de Lamirando G., Cantero A. *Canad. J. Med. Sci.*,
1953, 30, 543—548.
Andersen-Cedergren E. J. *Ultrastruct. Res.*, 1959, suppl. 1, 1—199.
André J. La formation mitochondries nouvelles dans les spermatocytes
du rat. В кн.: *Electron Microscopy*, 2. New York—London, Acad. Press,
1962.
Ashworth C., Lwibel F., Stewart S. C. *J. Cell. Biol.*, 1963, 17, 1,
1—19.
Ball E. G., Joel C. D. *Intern. Rev. Cytol.*, 1962, 13, 99—133.
Barnett R. *Anat. Rec.*, 1957, 127, 2, 395.
Barnett R., Palade G. J. *Histochem. Cytochem.*, 1958, 6, 1, 1—12.
Bassi M. *Exptl Cell Res.*, 1960, 20, 2, 313—324.
Becker H. *Am. J. Pathol.*, 1961, 38, 5, 587—597.
Berg W. E., Long N. D. *Exp. Cell Res.*, 1964, 33, 422—437.
Blanchette E. T. J. *Ultrastruct. Res.*, 1961, 5, 4, 349—363.
Chappell J. B., Greville I. D. *Nature*, 1961, 190, 4775, 502—504.
Carruthers J. S., Steiner J. W. *Gastroenterology*, 1962, 42, 4, 419—
430.
Chandra S. *J. Cell Biol.*, 1962, 12, 3, 503—513.
Chevremont M., Frederic J. *Publ. Union intern. Sci. Biol.*, 1955, 3,
21, 33—37.
Das H. K., Roy S. C. *Biochim., Biophys. Acta*, 1961, 53, 2, 445—446.
David H. *Ztschr. Zellforsch.*, 1962, 57, 4, 567—571.
Deschner E. E. *Exptl Cell Res.*, 1963, 31, 2, 428—432.
Ephrussi B. *Nucleo-cytoplasmic relations in microorganism*. Oxford Univ.
Press. London, 1953.
Ericson J. L. Correlation between ultrastructural and histochemical chan-
gen in experimental hemoglobinuric nephrosis. В кн.: *Electron Microscop-*
py. V. 2. New York—London; Acad. Press, 1962, v. 16.
Fawcett D. W. *J. Nat. Cancer, Inst.*, 1955, suppl. 2, 4, 305—310.
Fawcett D. *Development Cytol.* New York. Ronald Press, 1959, 161—189.
Fernandez-Moran H. *Circulation*, 1962, 26, 5, 1039—1074.
Fletcher M. J., Sanadi D. R. *Biochem., Biophys. Acta*, 1961, 51, 2,
356—360.
Gabler G. *Ztschr. ges. exp. Med.*, 1961, 134, 3, 291—299.
Gayet J. *Compt. rend. Acad. Sci.*, 1961, 255, 4, 715—717.
Green D. E. *Biol. Rev.*, 1951, 26, 410—455.
Green D. E., Fleischner S. *Biochem., Biophys. Acta*, 1963, 70, 5,
554—582.
Green D. E., Tisdale H. D., Criddle R. S., Chen P. Y., Beck R. M.
Biochem., Biophys. Res. Commun., 1961, 5, 2, 109—114.
Gustafson T., Lenique P. *Exptl Cell Res.*, 1952, 3, 251—274.
Harvey E. B. *J. exptl Zool.*, 1946, 102, 253—271.
Hayward A. F. *Exptl Cell Res.*, 1961, 24, 1, 198—200.
Hori K., Mochizuki S., Fujino Y. *Med. J. Osaka Univ.*, 1961, 12,
1—2, 27—42.
Hori K., Fujino Y. *I. Mitochondria Nippon acta radiol.*, 1961, 21, 3,
213—217.
Hudson G., Hartmann J. F. *Ztschr. Zellforsch.*, 1961, 54, 2, 147—157.
Hudson G., Lazarow A., Hartmann J. F. *Exptl Cell Res.*, 1961, 24,
3, 440—456.

- Jacobasch G., Wagenknecht C. *Acta biol. et med. german.*, 1963, 11, 2, 174—181.
- Jones E. A., Gutfreund H. *Biochem. J.*, 1961, 79, 3, 608—614.
- Jungueira L. C. U. *Exptl Cell Res.*, 1951, 2, 327—338.
- Karnovsky M. J. Mitochondrial changes and cytochrome oxidase in the frog nephron. В кн.: *Electron Microscopy. V. 2.* New York—London, Acad. Press, 1962, Q. 9.
- Kisch B. *Exp. med. Surg.*, 1961, 19, 4, 278—280.
- Lehninger A. L., Ray B. L., Schneider M. J. *Biophys. Biochem. Cytol.*, 1959, 5, 1, 97—108.
- Lehninger A. L. *J. Biochem.*, 1961, 49, 6, 553—560.
- Lever J. D. *J. Biophys., Biochem. Cytol.*, 1956, suppl. 2, 4, 313—316.
- Lioret Cl. *Bull. Soc. franç. physiol. végét.*, 1962, 8, 1, 32—37.
- Luck D. J. L. *Proc. Nat. Acad. Sci U. S. A.*, 1963, 49, 2, 233—240.
- Mölbart E., Deimling O., Duspiva F. *Proc. Europ. Reg. Conf. Electron. Microscop. Delft, 1960, v. 2*, 635—640.
- Malhotra S. K. *Exptl Cell Res.*, 1962, 28, 2, 435—457.
- Maltzahn K., Mühlethaler K. *Experientia*, 1962, 18, 7, 315—316.
- Mattisson A. G., Birch-Andersen A. On the fine structure of the mitochondria and relation to oxydative capacity in muscles in various invertebrates.
- Meves Fr. *Arch. mikr. Anat.*, 1915, 87.
- Montemagno U. *Arch. Obstet. Ginecol.*, 1962, 67, 3, 267—276.
- Munday K. A., Thompson B. D. *Compar. Biochem. Physiol.*, 1962, 6, 4, 277—287.
- Nebson L. *Exptl Cell Res.*, 1959, 16, 403.
- Nelson W. L., Buton R., Ciaccio E. *Arch. Biochem., Biophys.*, 1962, 96, 3, 500—505.
- Neubert D., Foster G. V., Lehninger A. L. *Biochim., Biophys. Acta*, 1962, 60, 3, 492—498.
- Niklowitz W. Morphological changes in the purkinjecells after orthostatic collapse. В кн.: *Electron Microscopy. V. 2.* New York—London, Acad. Press, 1962.
- North R. J., Pollak J. K. *J. Ultrastruct. Res.*, 1961, 5, 5, 497—503.
- Oberling Ch. *Intern. Rev. Cytol.*, 1959, 8, 1—28.
- Otero-Vilardebo L. R., Lane N., Godman G. C. *J. Cell Biol.*, 1963, 19, 3, 647—652.
- Packer L. Metabolic control of structural states of mitochondria. В кн.: *Biol. Structur. and Function. V. 2.* London—New York, Acad. Press, 1961, 92—94.
- Packer L. *J. Biol. Chem.*, 1962, 237, 4, 1327—1331.
- Palade G. E. Electron microscopy of mitochondria and other cytoplasmic structures. В кн.: *Internat. sympos. on Enzymes*, 1956, 185—215.
- Palade G. E. *Anat. Rec.*, 1952, 114, 427—452.
- Palade G. E. *J. Histochem. Cytochem.*, 1953, 1, 1, 188—190.
- Pappas C. D., Brandt P. W. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1959, 6, 1, 85—90.
- Parsons D. F. *Science*, 1963, 140, 3570, 985—987.
- Paul M. H., Sperling E. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1952, 79, 352—354.
- Peachey L. Accumulation of divalent ions mitochondrial granules of intact cells. В кн.: *Electron Microscopy. V. 2.* New York—London, Acad. Press, 1962, 003.
- Pease D. C. A unique structural component of mitochondrial cristae. В кн.: *Electron Microscopy. V. 2.* New York—London, Acad. Press., 1962, 1.
- Porta E. A., Hartrof W. S., Meyer J. S. *Rev. Soc. argent. biol.* 1960, 36, 3—6, 213—226.

- Richardson T., Tappel A. L., Smith L. M., Houle C. R. J. *Lipid Res.*, 1962, 3, 3, 344—350.
- De Robertis E., Sabatini D. D. J. *Biophys. Biochem. Cytol.*, 1958, 4, 667.
- Roche J., Rall J. E., Michel R., Michel O., Varrone S. *Biochim biophys. Acta*, 1962, 56, 1, 188—190.
- Roodyn D. B., Reis P. J., Work T. S. Protein synthesis in isolated mitochondria: its relationship to oxidative phosphorylation and its bearing upon theories of mitochondrial replication. В кн.: *Protein Biosynthesis*. London—New York, Acad. Press, 1961, 37—47.
- Rouiller Ch., Bernhard W. J. *nat. Cancer Inst.*, 1956, suppl. 15, 583—591.
- Scarpelli D. G. *Ann. Histochem.*, 1961, 6, 4, 279—282.
- Schjeide O. A., McCandless R., Wilkens M., Peterson M., Alexander G. *Exptl Cell Res.*, 1963, 32, 2, 379—390.
- Schjeide O. A., McCandless R., Munn R. J. *Growth*, 1963, 27, 2, 111—124.
- Schjeide O. A., McCandless R. *Growth*, 1962, 26, 4, 309—321.
- Schwalbach G., Agostini B. *Ztschr. Zellforsch.*, 1964, 61, 6, 6, 855—870.
- Schwarz W. *Ztschr. Zellforsch.*, 1961, 55, 4, 597—609.
- Sedar A., Rosa C. *Anat. Rec.*, 1958, 127, 2, 395.
- Sedar A., Rosa C. J. *Ultrastruct. Res.*, 1961, 5, 3, 226—243.
- Sjöstrand F. S. *Nature*, 1953, 171, 30—32.
- Sjöstrand F. S. *Nature*, 1963a, 199, 4900, 1262—1264.
- Sjöstrand F. S. J. *Ultrastr. Res.*, 1963b, 9, 3—4, 340—361.
- Sjöstrand F. S., Hanson V. *Exptl Cell Res.*, 1954, 394—429.
- Sjöstrand F. S., Rhodin J. *Exptl Cell Res.*, 1953, 4, 429—456.
- Sprites M. A., Guth P. S. *Nature*, 1961, 190, 4772, 274—275.
- Stasny J. T., Crane F. G. Separation of elementary particle from mitochondrial., 1964, 34, 2, 423—426.
- Stoeckenius W. J. *Cell Biol.*, 1963, 17, 2, 443—454.
- Themann H. *Proc. Europ. Reg. Conf. Electron. Microscopy. Delft.*, 1960, 2, 650—654.
- Trump B. F., Goldblatt P. J., Stowell R. E. *Lab. Invest.*, 1962, 11, 11, 1, 986—1015.
- Uberberg H. *Proc. Europ. Reg. Conf. Electron. Microscopy. Delft.*, 1960, 2, 807—861.
- Wahbe V. G., Balfour W. M., Samson F. E. *Compar. Biochem. Physiol.*, 1961, 3, 3, 199—205.
- Webster H. F. J. *Cell Biol.*, 1962, 12, 2, 361—383.
- Weiss J. M. J. *Exp. Med.*, 1955, 101, 213—224.
- Weissenfels N. *Protoplasma*, 1961, 54, 2, 229—240.
- Wollenberger A., Schulz W. J. *Biophys. Biochem. Cytol.*, 1961, 10, 2, 285—288.
- Zeuthen E. *Biol. Bull.*, 1955, 108, 366.
- Zollinger H. U. *Revus d'Hematol.*, 1950, 5, 696—745.

IV

КОМПЛЕКС ГОЛЬДЖИ

Ни одна структура клетки не вызывала столько споров и разногласий, как комплекс Гольджи. Даже реальность его существования долгое время оставалась сомнительной. Многолетние дискуссии отражают почти полторы сотни названий, предложенных для обозначения этого органоида. Комплекс Гольджи, описанный впервые Камилло Гольджи (1898) в клетках Пуркинье мозжечка, был назван автором «внутриклеточный сетчатый аппарат» («apparato reticolare interno»). Среди других наименований этой структуры наиболее распространены «аппарат Гольджи», «система Гольджи», «зона Гольджи», «вакуом», «диктиосомы» и др. Мы остановимся на термине, предложенном Dalton и Felix, (1954), — «комплекс Гольджи», так как он наиболее полно отражает современные представления об ультраструктурной организации этого органоида и широко распространен в электронномикроскопической литературе последних лет.

Морфология. Строение комплекса Гольджи довольно вариабильно. Первоначально он был описан в виде сложной сети, расположенной вокруг ядра (рис. 23, 24). В других случаях сетевидная структура имеет форму тяжа, опоясы-

вающего ядро. Иногда сетевидная структура приобретает вид шапочки, расположенной над ядром. Во всех этих случаях комплекс Гольджи сохраняет сетчатую структуру. Такая локальная форма микроскопической организации органоида считалась единственным и наиболее типичным его призна-

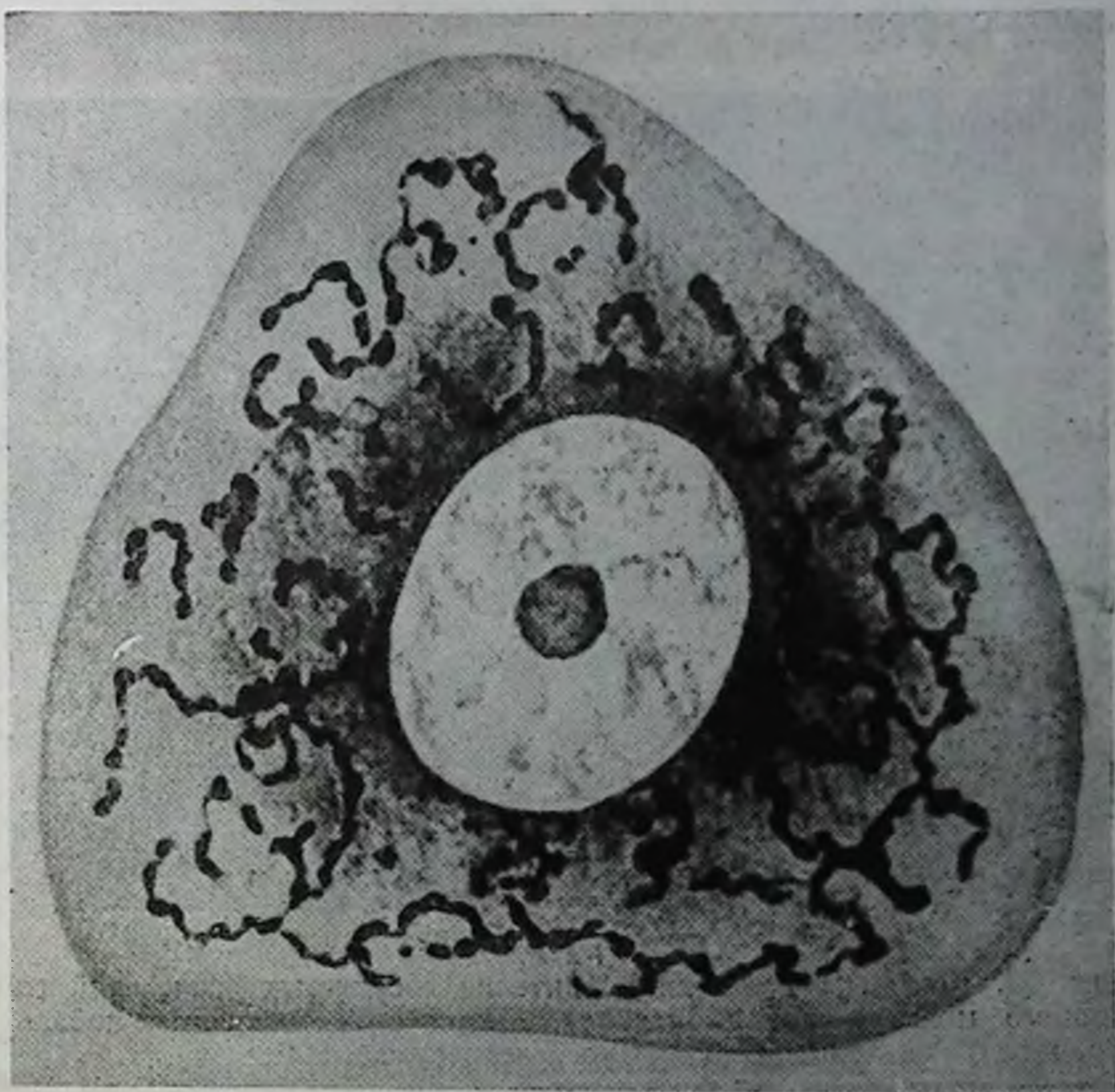


Рис. 23. Комплекс Гольджи в нейроне из спинального ганглия кролика. Импрегнация осмиевой кислотой по Копшу.

ком (Д. Н. Насонов, 1923, 1924, 1927; Bowen, 1929, и др.). Однако вскоре было обнаружено, что наряду с локальной формой комплекс Гольджи может иметь множественную организацию в виде отдельных телец сферической, серповидной или палочковидной формы (так называемые диктиосомы или тельца Гольджи). Рассеянная форма комплекса Гольджи иногда встречается в клетках позвоночных животных и, как правило, в клетках беспозвоночных (Hirschler, 1918; Дж. Гатенби, 1957, и др.). Предполагают, что локальная форма комплекса Гольджи возникла в процессе прогрессивной эволюции множественного типа организации органоида.

Электронномикроскопическими исследованиями было показано, что липохондрии не образуют комплекса Гольджи, хотя, вероятно, возникают в результате трансформации микропузырьков этого органоида. В процессе развития липохондрий они превращаются в обычные липоидные капли, содержащие многочисленные вакуоли, и после разрушения ограничивающей их мембраны растворяются в цитоплазме

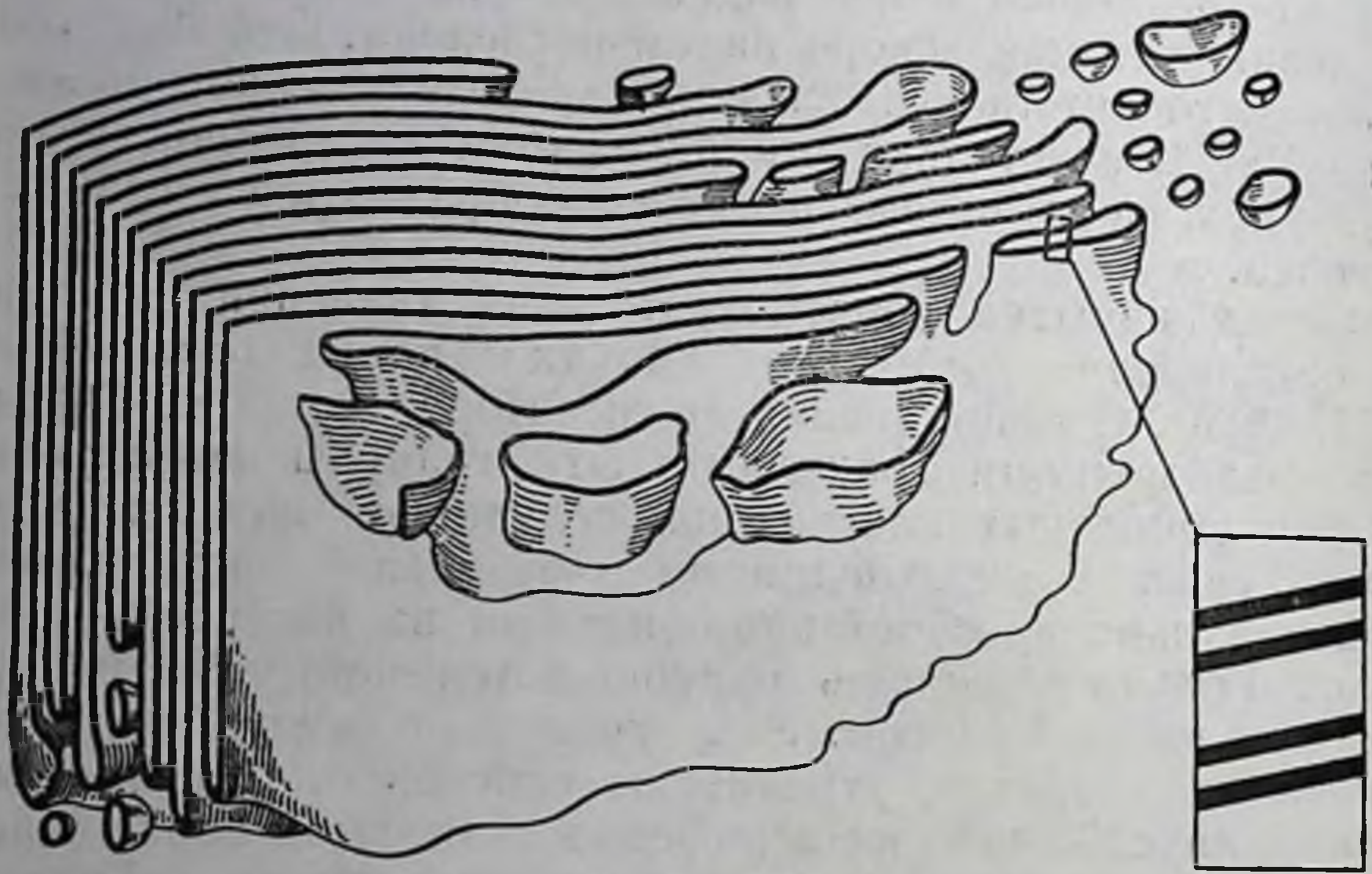


Рис. 25. Трехмерная схема ультраструктурной организации комплекса Гольджи (по И. Б. Токину, 1963).

(Ijima, 1959). Критики представлений Вагскер полагают, что «чем скорее слово „липохондрии“ будет забыто, тем лучше» (Дж. Гатенби, 1957).

Таким образом, различные попытки пересмотреть классические представления о строении комплекса Гольджи и найти общий план организации локальной и рассеянной форм этого органоида на уровне световой микроскопии оказались неудачными. В настоящее время дискуссии 20—30-х годов имеют лишь исторический интерес. Забегая несколько вперед, следует отдать должное Рагаг, Нирш и др., которые, критически оценивая сетевидную организацию комплекса Гольджи и объясняя механизм ее образования на препаратах, в какой-то степени предвосхитили те данные, которые через два десятилетия принесли ультраструктурные исследования этого органоида.

Электронномикроскопическими исследованиями (Dalton, Felix, 1953, 1954; Sjöstrand, Hanzon, 1954; Hirsch, 1961;

Fawcett, 1961, и др.) было показано, что комплекс Гольджи образуют три компонента (рис. 25).

1. Система уплощенных цистерн, которые ограничены парными, гладкими мембранами (γ -мембраны, ламеллы). Уплощенные цистерны лежат обычно пачками по 5—8, плотно прилегая друг к другу. Количество цистерн, их про-

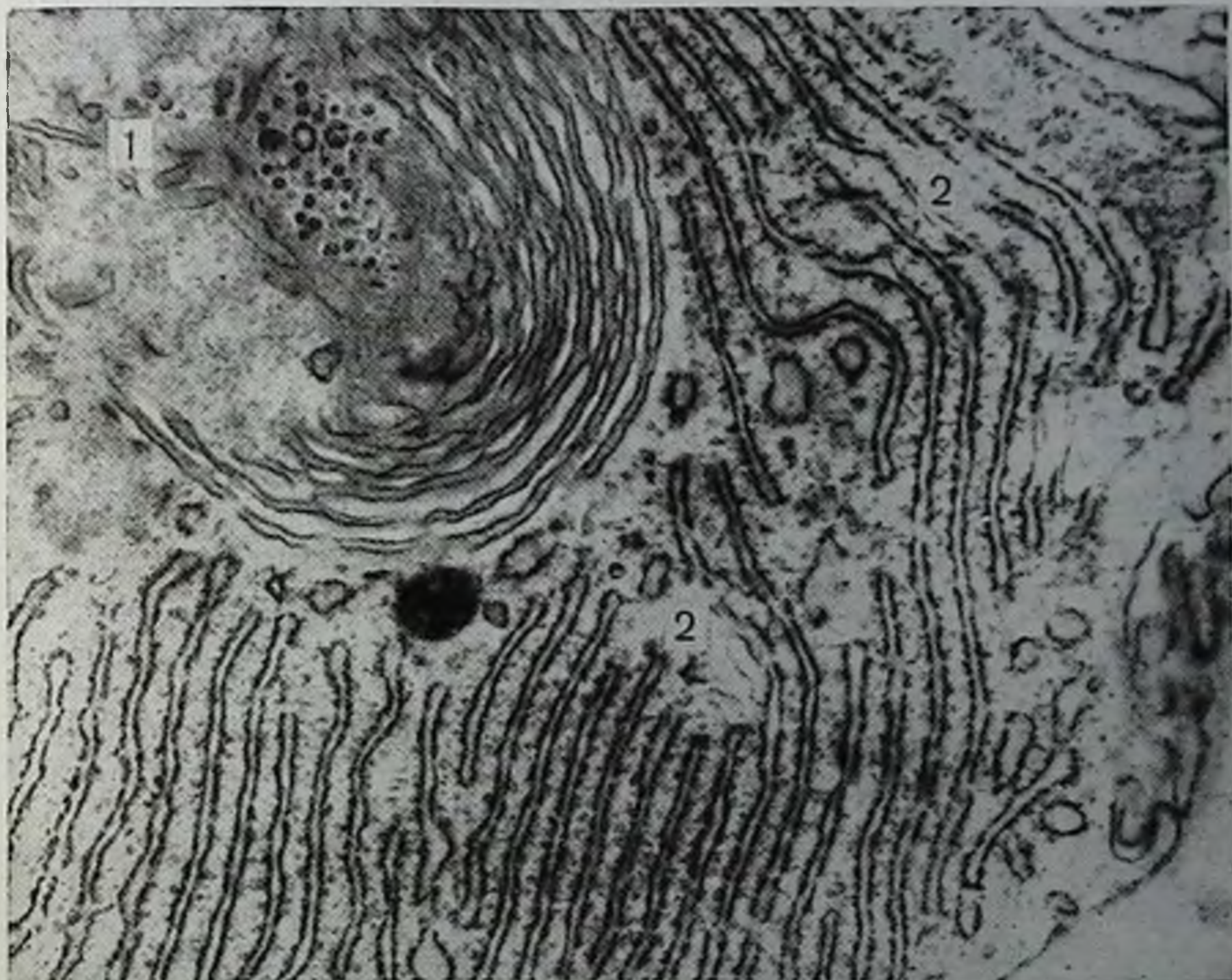


Рис. 26. Комплекс Гольджи (1) и гранулярная эндоплазматическая сеть (2) в клетке печени (по Фреетан, 1964).

тяженность и расстояния между ними варьируют в разных клетках. Минимальное расстояние между смежными цистернами не превышает 140—150 Å; внутреннее пространство каждой цистерны достигает 90 Å. Толщина парных мембран, ограничивающих цистерны, равна 70—80 Å.

2. Мелкие, довольно плотные микропузырьки, расположенные на концах сплюснутых цистерн. Диаметр микропузырьков не превышает 300—500 Å и при небольших разрешениях они имеют вид плотных гранул, первоначально названных «гранулами Дальтона и Феликс».

3. Крупные вакуоли, ограниченные такими же мембранами, как и цистерны. Размеры вакуолей достигают 0,2—0,3 μ

и расположены они обычно в средней части пачки уплощенных цистерн снаружи от них или между ними.

Имеются данные, согласно которым мембраны Гольджи, так же как и мембраны митохондрий, эндоплазматические мембраны и клеточная мембрана, имеют трехслойное строение и состоят из двойного фосфолипидного слоя и расположенных на поверхности белковых слоев (И. Б. Токин, 1961).

Разные компоненты комплекса Гольджи взаимосвязаны между собой и могут возникать друг из друга. Микропузырьки образуются путем отшнуровывания от концевых частей уплощенных цистерн (И. Б. Токин, 1961; Hirsch, 1962). Крупные вакуоли возникают путем расширения цистерн, а, уплощаясь, могут превращаться в систему γ-цитомембран (Fawcett, 1961; Herman, Fitzgerald, 1962). По другим данным (Essner, Novikoff, 1962), микропузырьки являются производными «переходных» участков эндоплазматической сети (см. главу V).

Данные электронной микроскопии подтвердили старые микроскопические наблюдения о большой полиморфности комплекса Гольджи (рис. 26—29). Хотя общий план организации комплекса Гольджи сохраняется в разных клетках, размеры (табл. 7) и степень развития отдельных компонен-

Таблица 7
Размеры элементов комплекса Гольджи
(по Ф. Шестранду, 1959)

Объект	Число пар мембран	Толщина одной мембраны	Расстояние между парами мембран	Расстояние между мембранами одной пары
Ацинозные клетки поджелудочной железы мыши	2—5	60	60	—
Эпидермис мыши	—	70	70	140
Почки мыши	4—6	60	90	50—200
Кишечный эпителий мыши	2—6	60	60	50—200

тов этого органоида значительно варьируют. Диктиосомы клеток беспозвоночных животных имеют такой же план организации (рис. 30), как комплекс Гольджи клеток позвоночных, но в диктиосомах система уплощенных цистерн развита более мощно, микропузырьки более многочисленны, а вакуоли развиты слабее (Dalton, Felix, 1956; Grassé, Crasso, Favard, 1956).

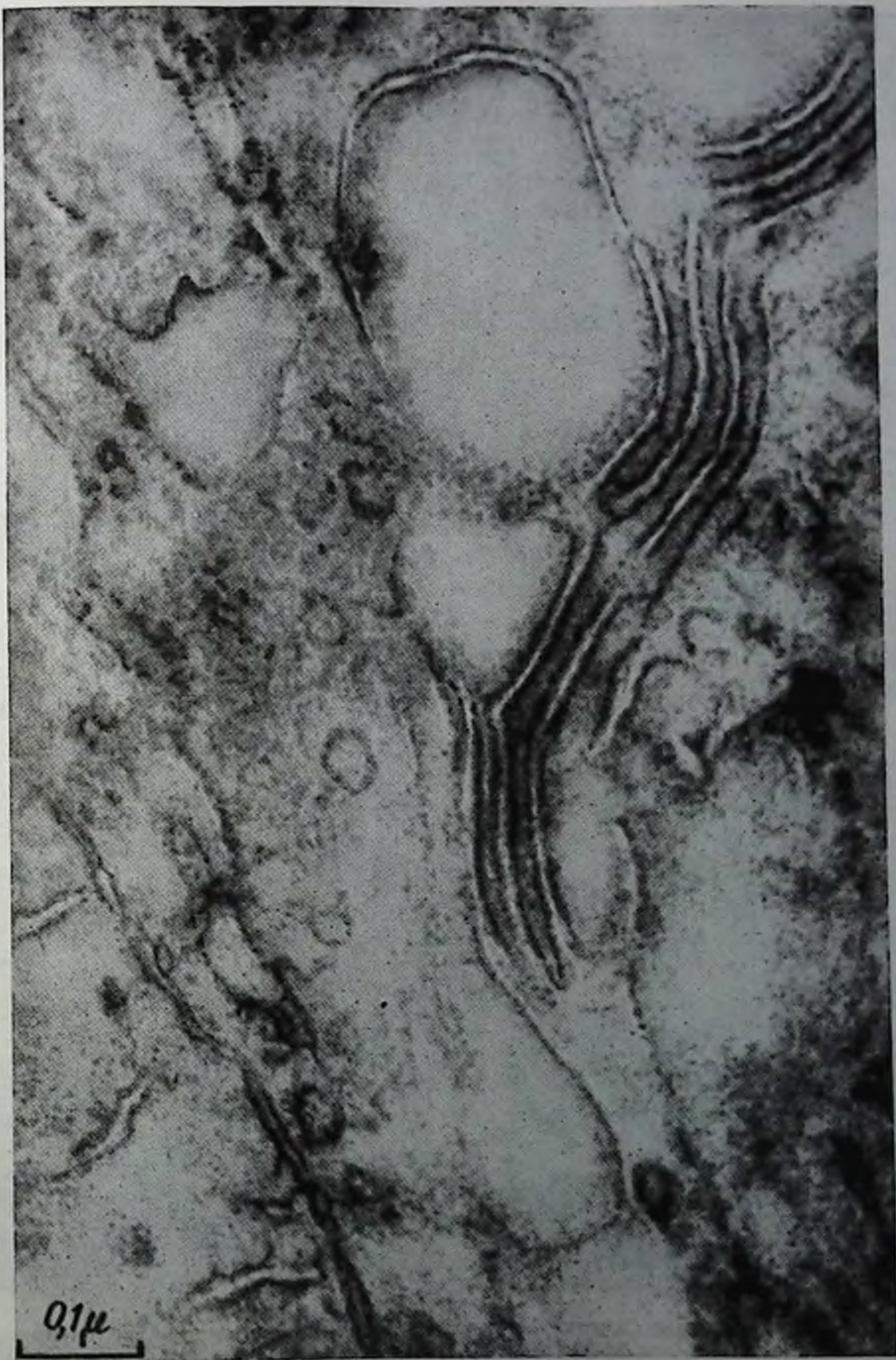


Рис. 27. Комплекс Гольджи в ацинозной клетке поджелудочной железы мыши. Увеличение $\times 150$ (по Sjöstrand и Hanzon, 1954).

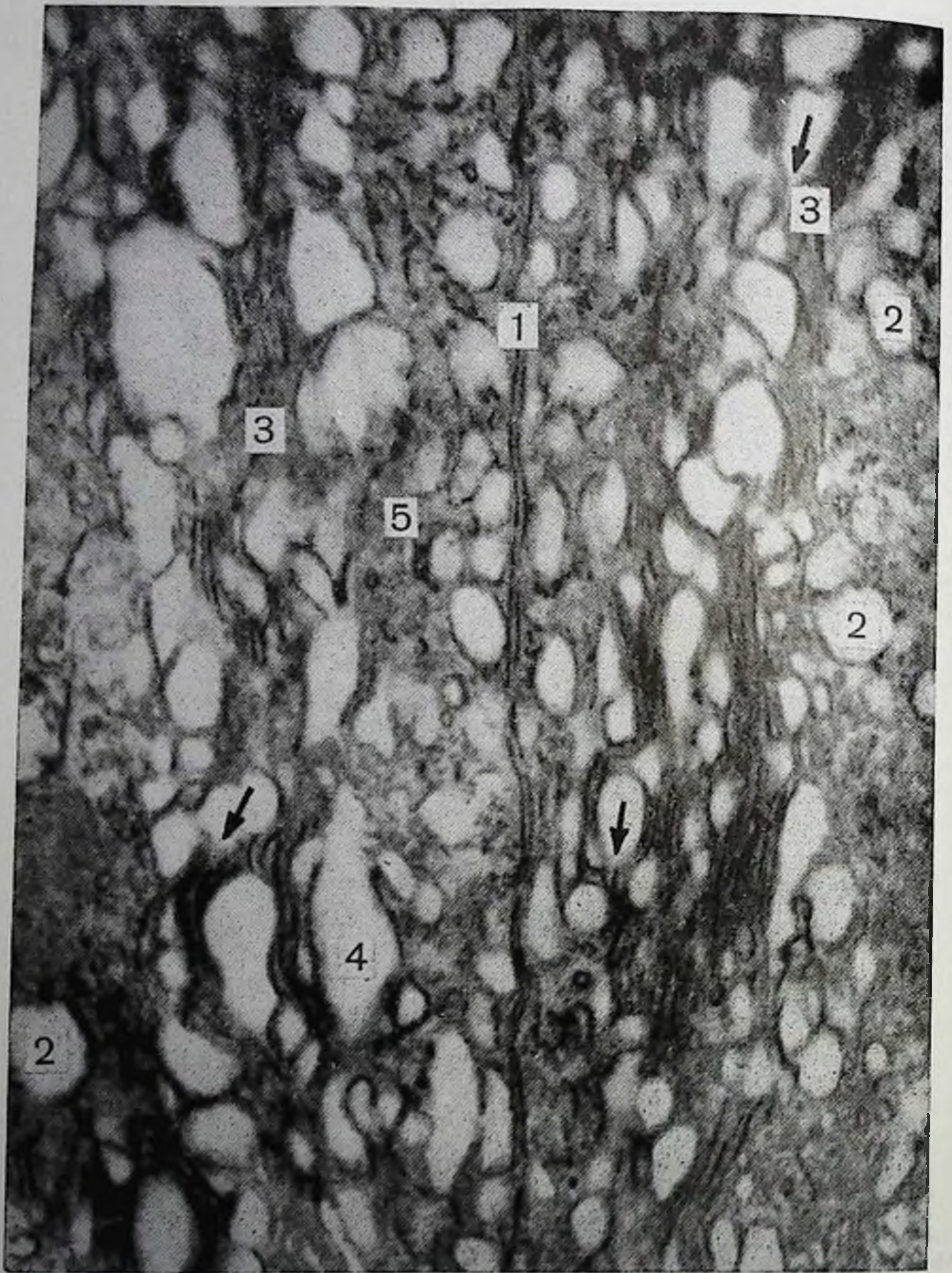


Рис. 28. Две смежные клетки придатка семенника мышцы. Увеличение $\times 57\,000$ (по Дальтону, 1963).

1 — плазматические мембраны обеих клеток; 2 — цистерны эндоплазматической сети; 3 — мембраны комплекса Гольджи обеих клеток; 4 — вакуоли Гольджи; 5 — скопления микропузырьков. Стрелками отмечено образование вакуолей Гольджи в местах расхождения мембран.

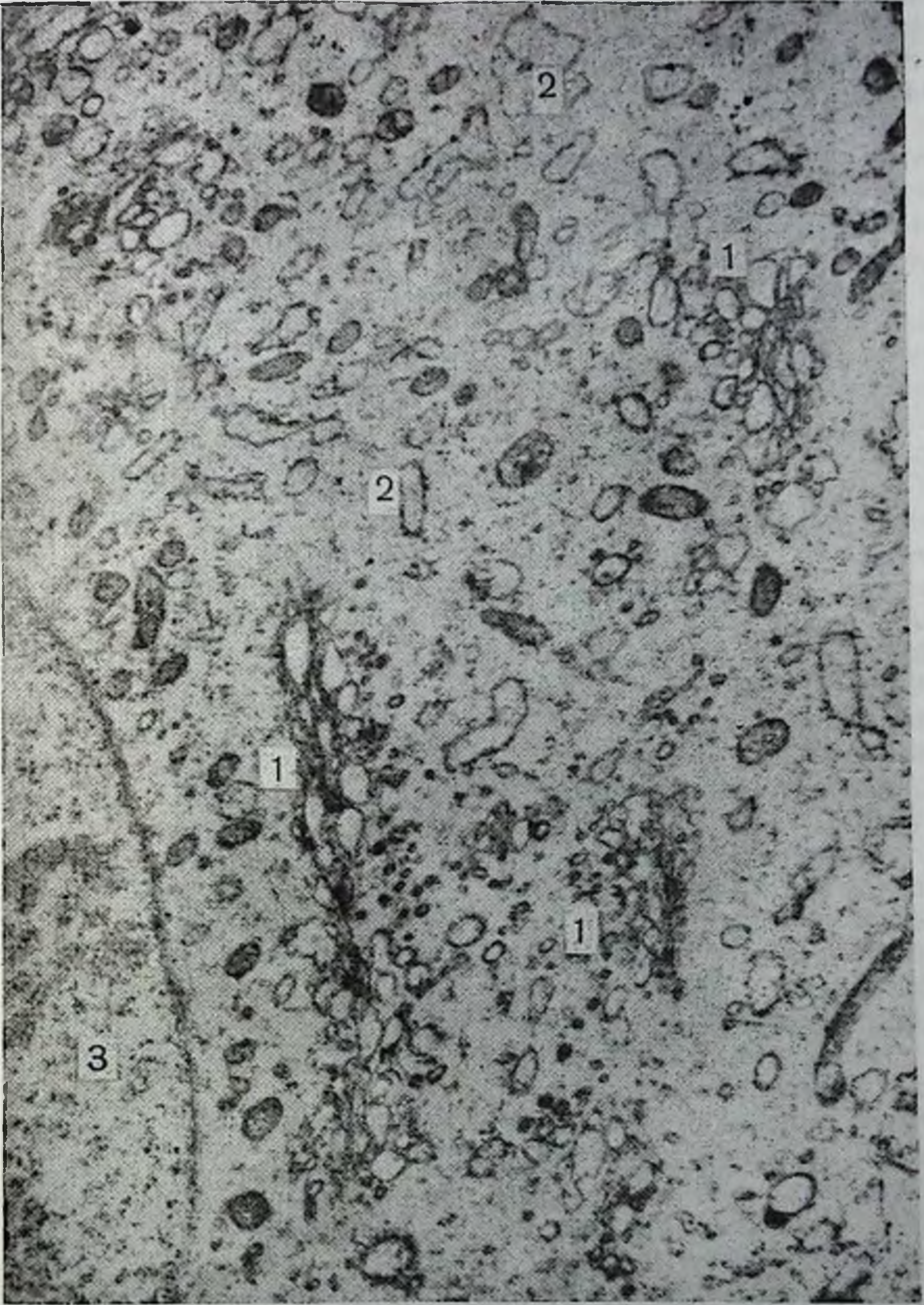


Рис. 29. Комплекс Гольджи в клетках хорионаллантоисной оболочки плода человека. Увеличение $\times 9200$ (по Шубину и Богуш, неопубл.)
1 — комплекс Гольджи; 2 — цистерна эндоплазматической сети; 3 — ядро.

Диктиосомы растительных клеток представлены небольшим числом укороченных сплюснутых цистерн, концы которых изогнуты и расходятся, и слабо развитыми микротрубочками (Mollenhauer, Whaley, Leech, 1961; Drawert, Mix, 1962; Buvat, 1958).



Рис. 30. Диктиосома в сперматиде (*Helix aspersa*). Видно 5 отдельных телец, состоящих из уплощенных цистерн. Увеличение $\times 32\,000$ (по Дальтону, 1963).

1 — диктиосома; 2 — митохондрия.

В разных клетках позвоночных животных степень развития отдельных компонентов комплекса Гольджи также значительно варьирует. Так, например, в клетках почки (Rhodin, 1954), в нейронах (Palay, Palade, 1955), в клетках печени (Daems, 1961; Steiner, Carruthers, 1961) и в лютеиновых клетках (Enders, 1962) наблюдали значительное разви-

тие мембранных систем при слабом образовании вакуолярного компонента. В сперматиде, сперматоцитах и овогониях различных млекопитающих системы цистерн развиты очень слабо или полностью отсутствуют, и комплекс Гольджи построен лишь из микропузырьков и вакуолей (Jasuzumi, 1956; Mollenhauer, Zebrun, 1960; Blanchette, 1961; Guraya, 1962). Вакуолярный компонент комплекса Гольджи сильно развит также в кишечном эпителии (Zetterqvist, 1956), клетках молочной железы (Carasso, Favard, 1961), лейкоцитах крысы (Bessis и др., 1958) и в плазматических клетках кролика (Meeker, 1962). Значение этих вариантов пока неясно, так как физиологическая роль отдельных компонентов комплекса Гольджи еще не изучена. Судя по ряду данных о процессах образования секрета, желточных гранул и акросомы (см. ниже), можно предполагать, что функциональная активность органоида сопровождается увеличением размеров и числа микропузырьков и крупных вакуолей Гольджи.

Комплекс Гольджи значительно изменяется в процессе онтогенеза (Fergeira, 1959; Ripan, 1960; Kajikowa, 1961). По данным Fergeira, в ацинозных клетках поджелудочной железы эмбрионов крыс (8—40 мм длины) комплекс Гольджи представлен лишь слаборазвитой системой цистерн (поперечник 50 Å) и ограничивающих их мембран (толщина 60 Å). Вакуоли первоначально отсутствуют, и лишь позже на концах цистерн образуются микропузырьки (200—400 Å). Число их постепенно увеличивается. На более поздних стадиях развития в результате расширения цистерн по их протяжению возникают крупные вакуоли. Одновременно с их образованием начинается формирование секреторных гранул. Как правило, комплекс Гольджи слабо развит в недеятельных, недифференцированных клетках. Отдельные его компоненты значительно редуцированы в эмбриональных клетках, в клетках культуры ткани (рис. 31) и в некоторых асцитных опухолях (Hagpeau, Bernhard, 1955; А. Дальтон, 1963). Значительные изменения претерпевает комплекс Гольджи в процессе функциональной активности клетки (см. ниже).

Локализация и методы выявления. Локализация комплекса Гольджи типична для разных клеток. Обычно он расположен около ядра или вокруг клеточного центра. Часто комплекс Гольджи лежит над ядром (полярно дифференцированные эпителии), реже он находится в базальной части клетки. Локализация комплекса Гольджи может изменяться в связи с функциональной активностью клетки.

Для выявления комплекса Гольджи на фиксированном препарате обычно используют импрегнацию (пропитывание) осмиевой кислотой или солями серебра, при восстановлении которых элементы комплекса Гольджи приобретают черную

окраску. Восстановление четырехоксида осмия (почернение) при импрегнации происходит на мембранных системах (уплощенные цистерны) комплекса Гольджи (A. Pollister, P. Pollister, 1957; A. Дальтон, 1963; Kallenbach, Sandborn, Warschawsky, 1963). В некоторых исследованиях выявили «негативные» картины этого органоида. В таком случае клетки, фиксированные хромово-сулемовыми смесями (по

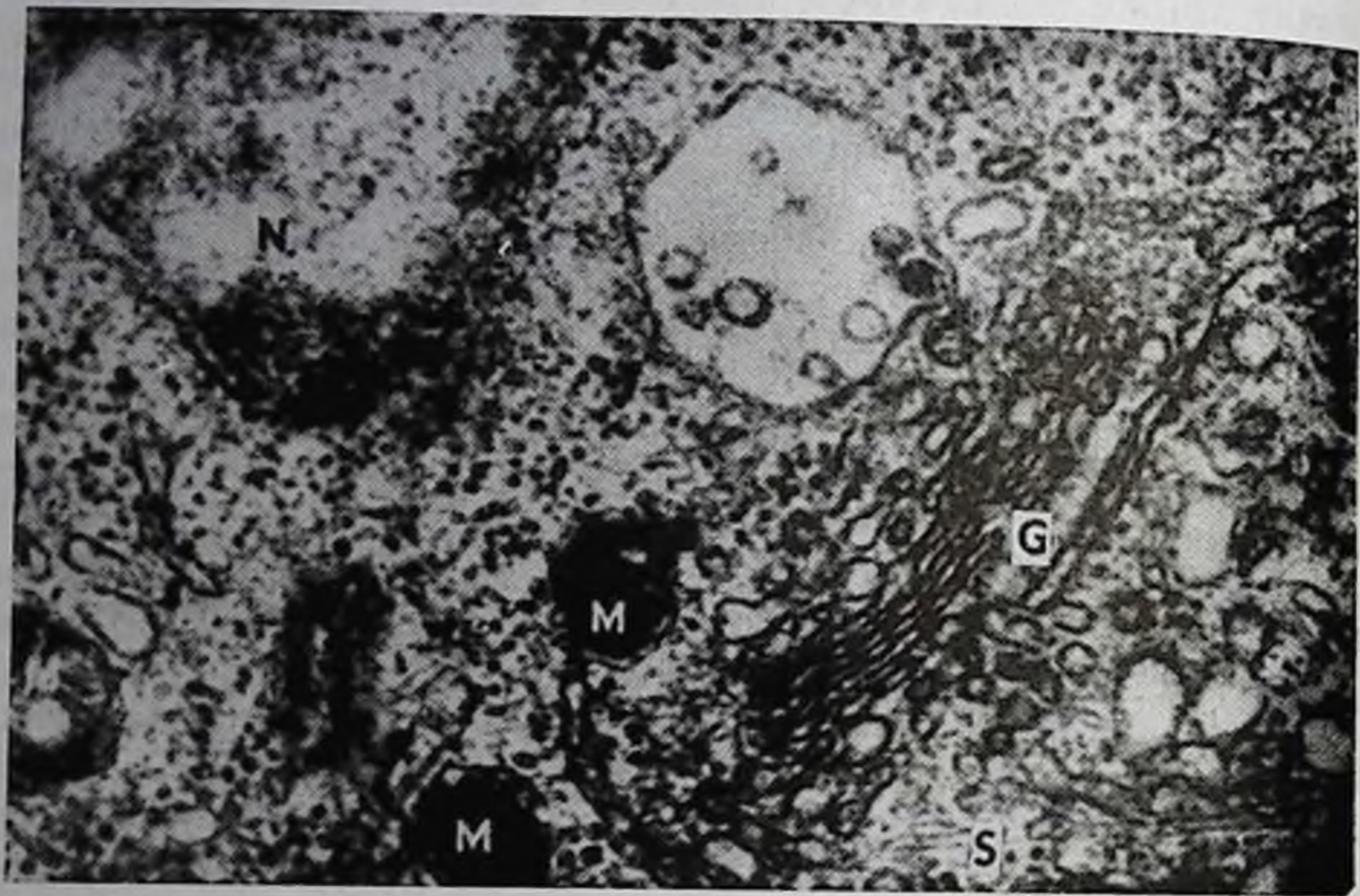


Рис. 31. Комплекс Гольджи в клетках HeLa культуры ткани (по Robbins, Gonatas, 1964).

G — комплекс Гольджи, N — ядро, M — митохондрии, S — рибосомы.

Ценкеру или Гелли) или двуххромовокислым калием с хромовыми квасцами (по Кольстеру), интенсивно окрашивают железным гематоксилином или азановым методом. При этом комплекс Гольджи выявляется в виде светлых канальцев на фоне темно закрашенной цитоплазмы.

Рядом авторов для обнаружения комплекса Гольджи применялась прижизненная окраска нейтральным красным. Как было отмечено выше, специфичность этого метода сомнительна, так как основные витальные красители не столько откладываются на преформированных структурах, сколько вызывают их новообразование.

Методы выявления комплекса Гольджи довольно капризны и дают непостоянные результаты. Несмотря на это, после отказа от представления об общем морфологическом образе этого органоида методы его выявления и прежде всего

импрегнацию осмием стали приравнивать к гистохимическим реакциям и рассматривать как основной критерий идентификации комплекса Гольджи. К последнему начали относить различные гранулы, импрегнирующиеся осмиевой кислотой. К счастью, довольно быстро наступило отрезвление, и для идентификации комплекса Гольджи стали использовать совокупность признаков (структура и методы выявления).

Реальная структура или артефакт? Несмотря на то что комплексу Гольджи посвящено около 5000 оригинальных исследований и свыше 20 обзоров и сводок, этот вопрос все еще стоит перед цитологией, хотя успехи последних лет значительно уменьшили его остроту и постепенно волна разочарования сменяется уверенностью. Для анализа проблемы реальности комплекса Гольджи удобнее разделить ее на два вопроса: 1) соответствуют ли картины фиксированного препарата прижизненной организации комплекса Гольджи; 2) существует ли этот органоид в живой клетке.

Уже различия в строении комплекса Гольджи, которые обнаруживаются при световой и электронной микроскопии, заставляют воздержаться от утвердительного ответа на первый вопрос. Как было отмечено выше, ряд исследователей (Hirsch, Parat и др.) давно предполагал, что сетевидные структуры комплекса Гольджи, видимые при световой микроскопии, являются результатом избыточного отложения осмия и серебра на компонентах этого органоида, имеющих иную структуру. Это предположение подтвердили электронномикроскопические исследования (Dalton, Felix, 1957; Thomas, 1961). Этими исследованиями было показано, что при длительном осмировании кусочков двенадцатиперстной кишки и придатка семенника мыши мембраны Гольджи становятся плохо различимыми, а избыточное отложение металла на мембранных системах цистерн и вакуолей комплекса Гольджи приводит к возникновению сетевидных структур, подобных картинам световой микроскопии. Эти наблюдения полностью не объясняют структуры «внутриклеточного сетчатого аппарата Гольджи». При последующих исследованиях было установлено, что классические сети Гольджи являются суммарными картинами импрегнации как структур комплекса Гольджи, так и других компонентов клетки, не относящихся к этому органоиду.

На нейронах различных позвоночных (Sharma, Manocha, 1962; Manocha, 1962a) и беспозвоночных животных (Manocha, 1962b) путем удаления осмия и серебра (персульфатом калия и раствором йода) из клеток, импрегнированных по классическим прописям, и одновременной фазовоконтрастной микроскопией было показано, что металлы при импре-

гнация осаждаются не только на комплексе Гольджи, но также на липидных включениях, глыбках Ниссля, элементах эндоплазматической сети и частично на митохондриях. Импрегнация этих различных структур и воспроизводила классическую сеть Гольджи. Последняя, таким образом, является артефактом, так как отражает картины не только комплекса Гольджи, но одновременно и других компонентов клетки. Эти данные требуют осторожной оценки сведений по физиологии комплекса Гольджи, полученных методами классической цитологии.

Вопрос о прижизненной реальности комплекса Гольджи долгое время оставался спорным. В особенно трудном положении оказалось учение об этом органоиде, когда выяснилась невозможность выявить его в культуре ткани прижизненно (темное поле) и на фиксированном препарате. Сейчас эта неудача понятна. Выше было отмечено, что в клетках культуры ткани комплекс Гольджи представлен преимущественно вакуолярным компонентом, а мембранные системы развиты слабо, между тем при импрегнации осмиевой кислотой металл восстанавливается именно на мембранах Гольджи.

Вместе с тем в последние годы накопилось довольно много косвенных и прямых наблюдений, подтверждающих прижизненную реальность комплекса Гольджи.

1. Рядом исследователей было показано, что различные вещества (витальные красители, липиды, соединения железа, аскорбиновая кислота), прижизненно введенные в организм, располагаются в клетке соответственно форме и локализации комплекса Гольджи. Поразительное совпадение этих картин с комплексом Гольджи фиксированного препарата свидетельствует в пользу предобразованности этого органоида (Б. В. Кедровский, 1947).

2. Имеются наблюдения, свидетельствующие о физической целостности комплекса Гольджи. При ультрацентрифугировании клеток маточных желез морской свинки было обнаружено изменение формы и смещение этого органоида в направлении центробежной силы (Beams, King, 1934).

3. Еще в 30-х годах начали появляться прямые наблюдения над комплексом Гольджи в живых клетках. Румынский исследователь Воинов (1927) наблюдал прижизненно диктиосомы в сперматиде клопа-гладыша. При витальном окрашивании нейтральным красным они имели вид прозрачных вакуолей, прикрепленных к акросомному пузырьку. После хромово-осмиевой фиксации этой клетки вакуоли Гольджи выявлялись в форме грибовидных образований, через ножку которых в акросомный пузырек поступал секреторный материал. В 1930 г. Дж. Гатенби (1957) наблюдал диктио-

сомы в живых сперматиде ракообразных и моллюсков. Диктиосомы имели здесь вид стекловидных телец, расположенных около ядра. При окраске нейтральным красным внутри этих телец выявлялось несколько окрашенных вакуолей. После фиксации клеток и импрегнации их осмиевой кислотой или серебром контуры вакуолей интенсивно чернились, воспроизводя картины сетчатого комплекса Гольджи.

После того как электронномикроскопически была установлена гомологичность диктиосом и комплекса Гольджи позвоночных животных, появилось большое число исследований, в которых методом фазовоконтрастной микроскопии удалось выявить этот органоид во многих живых клетках. Прижизненно его наблюдали в эпителии придатка семенника (Dalton, Felix, 1953), в растительных клетках (Jagosch, 1962), в нейронах различных животных (Kitada, 1961), в живых остеобластах (Rose, 1961) и фибробластах куриного зародыша (Takagi, Kitada, Masuda, Tagawa, 1961), в адомантобластах крыс (Kallenbach, Sandborn, Warschawsky, 1963). В растительных клетках диктиосомы подвергались незначительным смещениям, связанным с движением цитоплазмы. Эти и аналогичные наблюдения, число которых непрерывно возрастает, позволяют рассматривать комплекс Гольджи как структуру, реально существующую в живой клетке.

Химический состав. Общее увлечение биохимической цитологией сравнительно слабо распространилось на комплекс Гольджи. Сложность идентификации и трудности выделения этого органоида при фракционном центрифугировании ограничили возможности биохимических и гистохимических исследований. В связи с этим химическая характеристика комплекса Гольджи еще недостаточно ясна. Учитывая, что комплекс Гольджи выявляется осмиевой кислотой, которая восстанавливается преимущественно на липидных структурах, давно высказывали предположение, что в состав этого органоида входят липиды. Это предположение стало особенно вероятным после того, когда удалось окрасить комплекс Гольджи суданом красным (Вейнер, 1926) и суданом черным (Вакег, 1949) — красителями, специфически выявляющими липиды. Но так как при ультрацентрифугировании клетки оказалось, что диктиосомы имеют больший удельный вес, чем чисто липидные компоненты (Beams, King, 1934), возникло представление, что комплекс Гольджи образован липидами и протеинами. Это предположение подтвердилось дальнейшими гистохимическими исследованиями. Было обнаружено, что в состав комплекса Гольджи сперматид позвоночных животных входят липиды, липопротеиды и фосфолипиды (Gugaуа, 1962). В этом органоиде были выяв-

лены также аргинин, небольшие количества РНК (Malhotra, 1961) и щелочная фосфатаза (Rose, 1961). В сперматоцитах и некоторых нейронах обнаружена активность кислой фосфатазы (Goldfischer, Essner, Novikoff, 1964; Tice, Bagnett, 1963). Гистохимически дыхательные ферменты в комплексе Гольджи обнаружить не удалось и была выявлена лишь слабо положительная реакция на липоаминдегидрогеназу и НАДФ-диафору (Lojda, Zawistowski, 1960). По данным Novikoff и Goldfischer (1961), Goldfischer (1964), комплекс Гольджи нейронов кролика дает интенсивную реакцию на нуклеозиддифосфатазу и тиамин-пирофосфатазу. Электронно-цитохимические исследования сперматид улитки (Meek, Bradbury, 1963) показали, что тиамин-пирофосфатаза в комплексе Гольджи локализована между мембранами Гольджи и в микропузырьках.

Гистохимические данные хорошо согласуются с биохимическими исследованиями. Путем центрифугирования гомогената придатка семенника крысы в растворах сахарозы нарастающей плотности удалось выделить изолированную фракцию Гольджи (Э. Кафф, А. Дальтон, 1962). Биохимический анализ этой фракции показал, что комплекс Гольджи содержит равные количества фосфолипидов и белка. Фракция Гольджи содержала незначительное количество РНК и липоаминдегидрогеназы. Вопреки первоначальным данным (В. Шнейдер, Э. Кафф, 1957), удельная активность щелочной фосфатазы во фракции оказалась незначительной, тогда как содержание кислой фосфатазы довольно высоким. Изолированный комплекс Гольджи не содержал цитохромоксидазы, дезоксирибонуклеазы, эстеразы и аденозинтрифосфатазы. Отсутствие специфических биохимических особенностей и относительная бедность ферментов в комплексе Гольджи позволили полагать, что функция этого органоида осуществляется не ферментативным путем.

Функции. Многочисленными исследованиями начального периода изучения комплекса Гольджи была установлена связь этого органоида с секреторным процессом. Методами классической цитологии обнаружено, что в железистых клетках гранулы секрета локализуются в зоне Гольджи (Д. Н. Насонов, Bowen и др.). Сетевидные структуры комплекса Гольджи на фиксированном препарате с окрашенными секреторными гранулами Bowen сравнивал с корзиной, наполненной вишнями. Мелкие секреторные гранулы располагались на «дне корзины» между перекладинами комплекса Гольджи. По мере созревания они смещались к апикальной поверхности клетки. Связь комплекса Гольджи с формированием секреторных гранул подтвердили электронномикроскопические исследования на бакаловидных

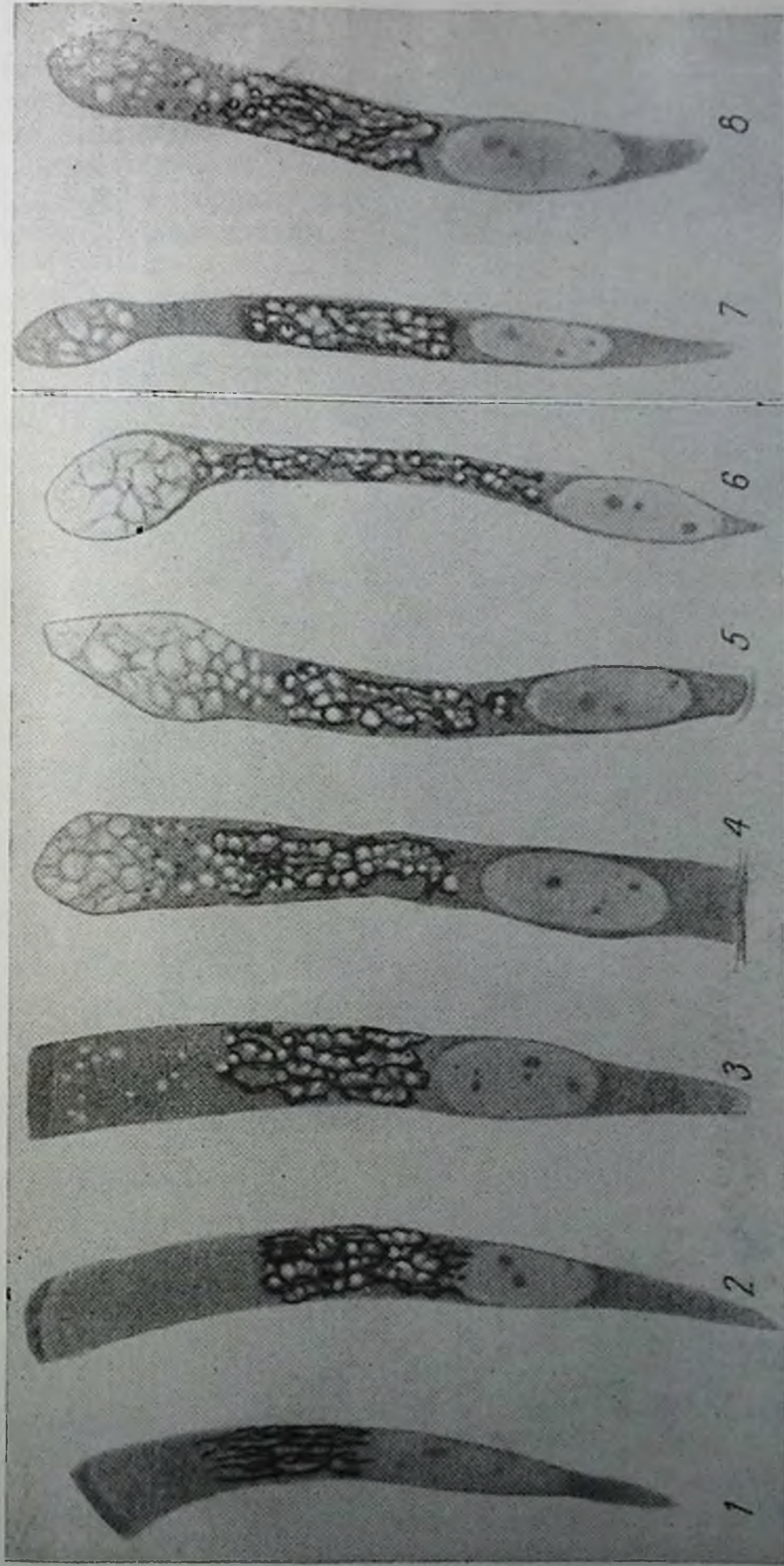


Рис. 32. Изменения комплекса Гольджи в бокаловидных клетках кишечника тритона на разных стадиях секреции. Импрегнация осмием по Колачеву — Насонову (по Д. Н. Насонову, 1963).
 1 — несекретирующая клетка; 2 — начальные стадии образования слизи; 3—4 — увеличение количества слизи; 5—6 — максимальное количество бокала; 7—8 — выделение секрета.

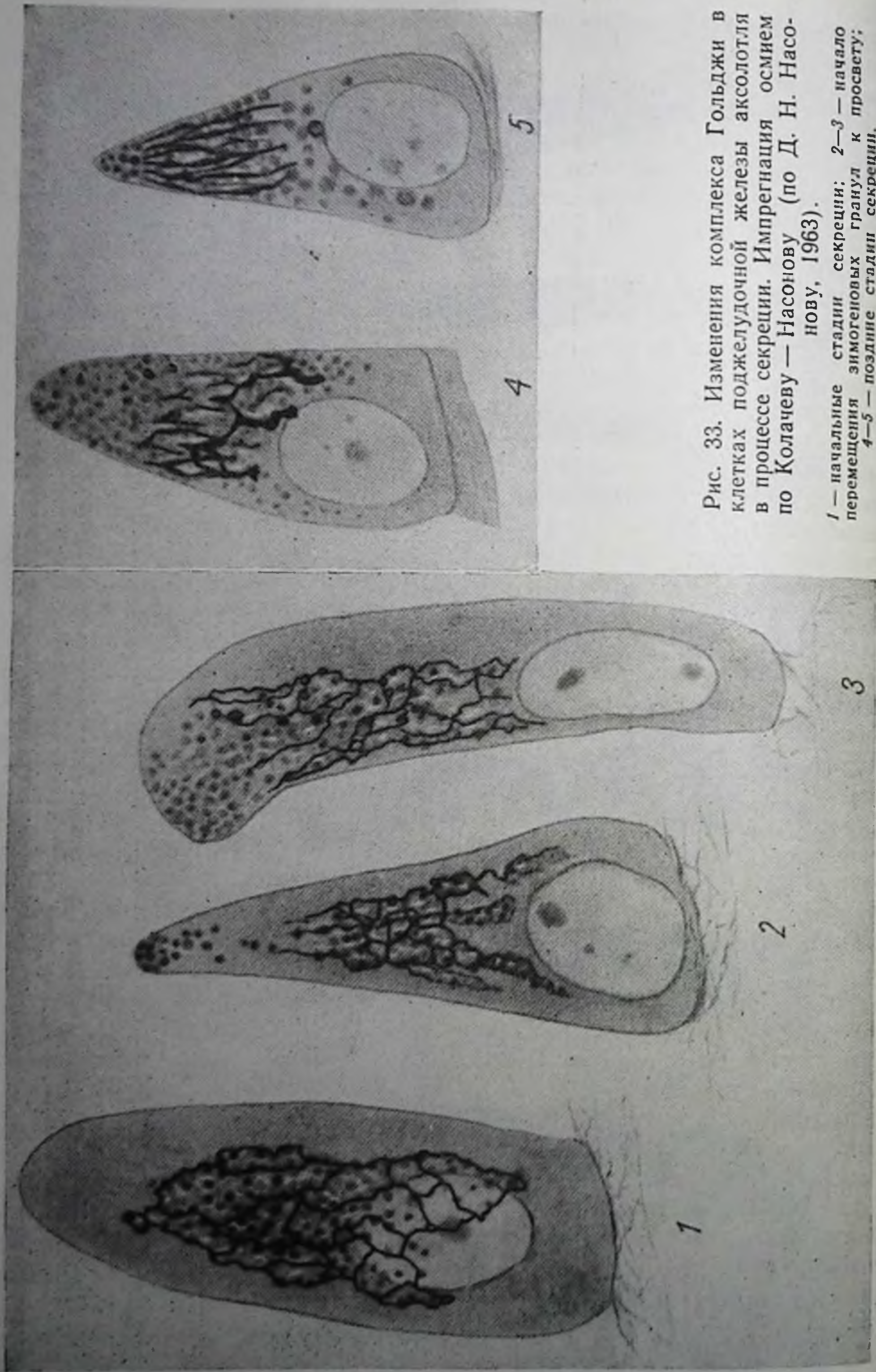


Рис. 33. Изменения комплекса Гольджи в клетках поджелудочной железы аксолотля в процессе секреции. Импрегнация осмием по Колачеву — Насонову (по Д. Н. Насонову, 1963).

1 — начальные стадии секреции; 2-3 — начало перемещения зимогеновых гранул к просвету; 4-5 — поздние стадии секреции.

клетках (Palay, 1958), ацинозных клетках поджелудочной железы, слизистых клетках желудка (Fawcett, 1961), нейро-секреторных клетках (Miyakami, 1962) и на других железистых клетках. Секреторные гранулы были обнаружены в крупных вакуолях Гольджи. Полагают, что первичный секреторный материал, поступающий в комплекс Гольджи, первоначально локализуется в системе цистерн, а по мере

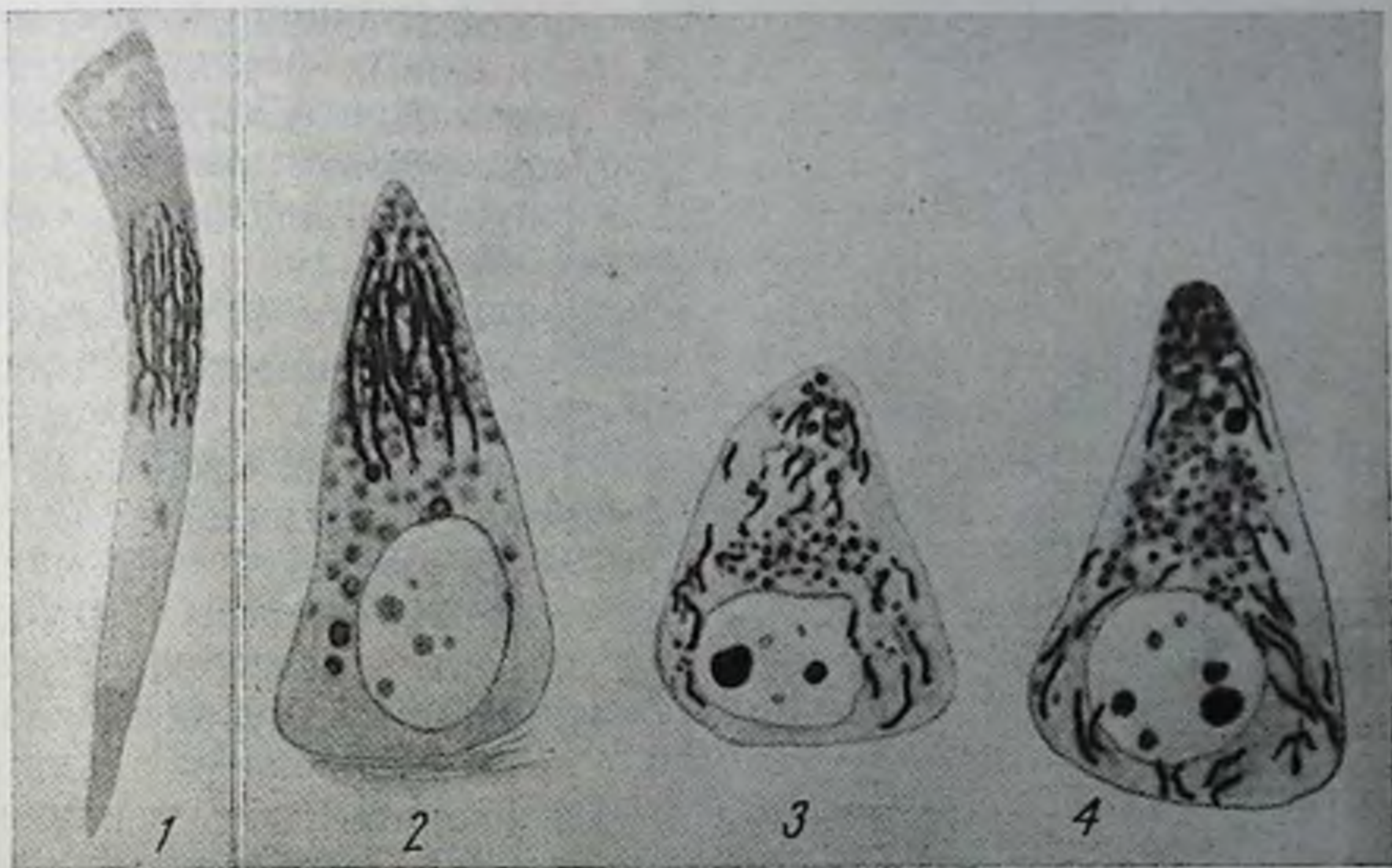


Рис. 34. Изменения структуры и локализации комплекса Гольджи в клетках поджелудочной железы мыши после введения пилокарпина (по Д. Н. Насонову). Комплекс Гольджи увеличивается и превращается в широковетвистую сеть. Импрегнация осмиевой кислоты по Колачеву.

1 — нормальная локализация; 2 — смещение комплекса Гольджи в апикальную часть клетки через 3 часа после введения пилокарпина; 3 — начало восстановления после освобождения клеток от секреторных гранул; 4 — через 8 часов после введения пилокарпина.

созревания он попадает в крупные вакуоли. Вакуоли Гольджи перемещаются к поверхности клетки, ограничивающая их мембрана сливается с клеточной оболочкой и секрет выделяется наружу (Fawcett, 1959, 1961).

В процессе секретной деятельности клетки наблюдались изменения структуры комплекса Гольджи (рис. 32, 33). Этот органод, выявленный классическими импрегнационными методами, в процессе секреции гипертрофировался, перекладины его утолщались и интенсивнее чернились осмием. После выделения секрета комплекс Гольджи подвергался редукции. Подобного типа изменения были прослежены и на ультраструктурном уровне. На ацинозных клетках поджелу-

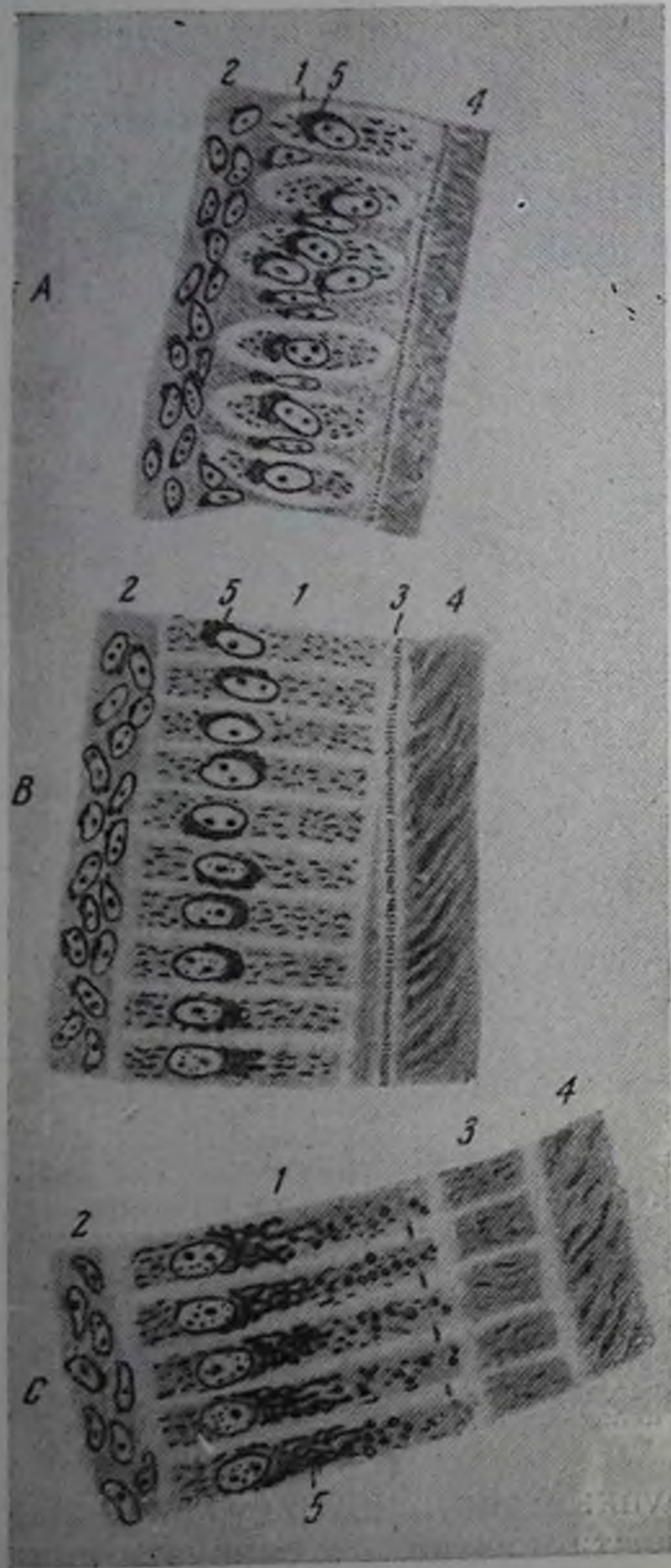


Рис. 35. Инверсия локализации комплекса Гольджи в адомантобластах в процессе образования эмали. Увеличение $\times 100$ (по Г. В. Ясвоину).

А — нормальное расположение комплекса Гольджи в апикальной части клеток; В — начало секреции и перемещение комплекса Гольджи в базальное положение; С — на высоте секреции комплекс Гольджи расположен в базальной части клетки; 1 — адомантобласты; 2 — промежуточный слой эмалевого органа; 3 — эмаль; 4 — дентин; 5 — комплекс Гольджи.

дочной железы, секреция которой стимулировалась пилокарпином (Farguhar, Willings, 1957) или дачей пищи (Fawcett, 1959), наблюдали усиленное образование вакуолярного компонента органоида и формирование в них зимогеновых гранул. На слизистых клетках насекомоядного растения *Drosophyllum lusitanicum Schnepf* (1961) обнаружил прямую зависимость между количеством микропузырьков и вакуолей Гольджи и интенсивностью выделения слизи.

В клетках околощитовидной железы лягушки при гиперфункции наблюдали редукцию, разрывы мембран Гольджи и значительное увеличение микропузырьков (Montskó, Tigyí, Benedeczky, Lissák, 1963).

При секреторной активности клетки не только изменяется структура комплекса Гольджи, но и его локализация. Соответственно изменению локализации этого органоида перемещается и область формирования секреторных гранул. Д. Н. Насоновым (1924) на ацинозных клетках поджелудочной железы было показано, что после введения пилокарпина комплекс Гольджи смещался в апикальную часть клетки и соответственно зона формирова-

ния секреторных гранул также перемещалась в эту область (рис. 34). Особенно демонстративными оказались наблюдения над адомантобластами (G. Jasswoin, 1924; Beans, King, 1933). В этих клетках комплекс Гольджи расположен в апикальной части клетки. С началом секреции эмали, которая осуществляется базальной частью клетки, комплекс Гольджи смещается к основанию (рис. 35).

Все эти наблюдения убеждают в значении комплекса Гольджи в процессе формирования секреторных гранул. Аргументация этой точки зрения представлялась настолько убедительной, что наиболее решительные авторы учебников стали писать о комплексе Гольджи как об «органоиде секреции». Эта формула ошибочна и по теоретическим соображениям, и по имеющемуся фактическому материалу. Ни один внутриклеточный процесс, в том числе и секреция, не является результатом деятельности отдельного компонента клетки. Не существует монополии одного органоида на ту или иную клеточную функцию. Любое проявление жизнедеятельности клетки является результатом согласованной работы ее взаимосвязанных компонентов. Секреторный процесс служит, пожалуй, наиболее яркой иллюстрацией этого положения.

Блестящими работами Palade и сотрудников (Siekevitz, Palade, 1958, 1959; Caro, Palade, 1961; Дж. Палад, 1962; Р. Сикевитц, 1962), а также Fawcett (1959, 1961) было показано, что образование секрета (ферментов) начинается синтетическими процессами в рибосомах. Синтезированный секреторный материал поступает в интрацистернальные пространства гранулярной эндоплазматической сети, где происходит образование первичных презимогеновых гранул. Через гладкую эндоплазматическую сеть секреторный материал поступает в комплекс Гольджи, где происходит окончательное оформление и созревание секреторных гранул. На основании этих данных Г. Хиршем (1963) были разработаны представления о принципе внутриклеточного «конвейера» в выработке ферментов. Согласно этим представлениям, в клеточной «фабрике», вырабатывающей секрет, комплекс Гольджи служит последним «упаковочным цехом», в котором конденсируется и оформляется секреторный материал (рис. 36). Учитывая бедность комплекса Гольджи ферментами, можно представить себе, что эта конденсация секреторных гранул происходит не ферментативным путем, а за счет осмотического удаления воды. Вместе с тем в ряде случаев в комплексе Гольджи осуществляются и некоторые синтетические процессы, связанные с секрецией. По данным Peterson и Leblond (1964), радиоактивная глюкоза (d-глюкоза-6-Н³), идущая на образование гликопротеидов, в клетках

включается первоначально в комплекс Гольджи. Сюда же поступает белок, синтезированный на рибосомах, и в области этого органоида белок соединяется с углеводным компонентом, формируя гликопротеиды.

Функции комплекса Гольджи не ограничиваются только формированием секреторных гранул. Ряд наблюдений свидетельствует об участии этого органоида в образовании и

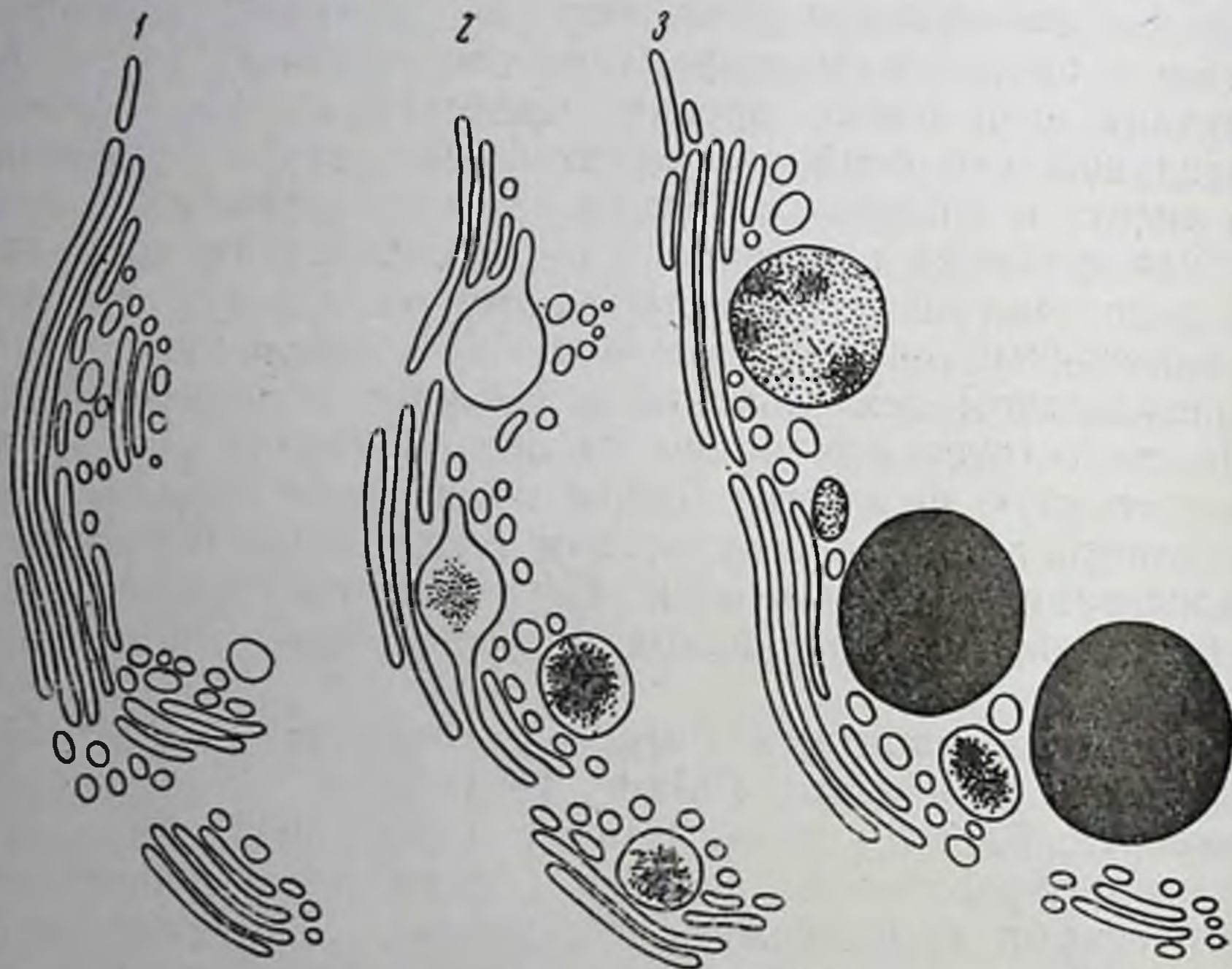


Рис. 36. Конденсация и оформление секрета в комплексе Гольджи (по Fawcett, 1959).

1 — комплекс Гольджи до начала секреции; 2 — начало секреции и образование вакуолей Гольджи, в которых конденсируется секреторный материал; 3 — формирование зимогенных гранул.

других морфологически оформленных продуктов синтетической деятельности клетки. Уже старыми исследованиями, выполненными классическими методами световой микроскопии (Hirschler, 1919; Gatenby, 1922, и др.), было показано, что при развитии овоцита формирование зерен желтка связано с комплексом Гольджи. Эти данные подтвердили электронномикроскопические исследования. На яйцах морского ежа было обнаружено, что формирование желточных гранул происходит в крупных вакуолях комплекса Гольджи (Alzeilius, 1956). По мере роста овоцита гранулы желтка увеличиваются, в них появляется белок, поверхностная мембрана, ограничивающая гранулу, разрушается и гранулы оказываются свободно лежащими в цитоплазме. Этот процесс формирования гранул желтка сопровождается изменениями структуры комплекса Гольджи. По данным Wischnitzer

(1962), в молодых овоцитах тритона комплекс Гольджи образован микропузырьками (150—600 Å) и пачками плоских цистерн, расположенных приблизительно по 6 в одной группе. С момента формирования желтка микропузырьки исчезают, число цистерн уменьшается до 4, а рядом с ними появляются крупные вакуоли Гольджи, в которых формируются желточные гранулы. Необходимо учитывать также, что как формирование секреторных гранул, так и образование желточных пластинок связано не только с комплексом Гольджи, но и с эндоплазматической сетью, с митохондриями и ядром. На овоцитах рака было показано, что синтез, перемещение и накопление желтка происходят первоначально в цистернах эндоплазматической сети, а созревание — в комплексе Гольджи, который связан с эндоплазматическими мембранами (Beams, Kessel, 1963).

Многочисленными исследованиями прежних лет была установлена связь комплекса Гольджи с формированием акросомы сперматозоида (Bowen, 1922). Развитие акросомы в сперматиде морской свинки и кошки происходит внутри комплекса Гольджи (Burgos, Fawcett, 1955; Fawcett, Hollenberg, 1963; Stefanelli, Caravita, 1962). При этом наблюдается расширение цистерн и образование крупных вакуолей, в одной или в нескольких из которых возникает плотная «проакросомная гранула». Вакуоль Гольджи постепенно увеличивается, приобретает вид «акросомной вакуоли», которая с формирующейся внутри акросомной гранулой смещается к ядру, где и завершается процесс образования акросомы.

В последние годы была прослежена связь комплекса Гольджи с образованием коллагена. В процессе развития хряща кролика в вакуолях комплекса Гольджи хондробластов были обнаружены включения, которые по характеру своей периодической исчерченности (периодичность равна 2000 Å) были идентифицированы с коллагеном (Scheldon, Kimbell, 1962).

В растительных клетках удалось проследить связь комплекса Гольджи с образованием клеточной перегородки. В вакуолях Гольджи было обнаружено плотное вещество (целлюлоза?), идущее на построение клеточной перегородки, образующейся при делении (Drawert, Mix, 1962; Whaley, Mollenhauer, 1963).

Большое количество исследований убеждает в участии комплекса Гольджи в процессах всасывания и накопления липидов в клетке. В экспериментах с кормлением животных жиром было найдено, что в эпителии кишечника всосавшийся жир накапливается в области комплекса Гольджи (П. А. Вейнер, 1926; Litwer, 1928; Watton, Martin, 1953). Электронномикроскопические исследования (Palay, 1958;

Ласу, Taylor, 1962; А. Дальтон, 1963) подтвердили и уточнили эти первоначальные данные. Через разные сроки после кормления животных кукурузным маслом в эпителии кишечника было обнаружено, что капельки жира посредством пиноцитоза поступают в эндоплазматическую сеть, а через нее

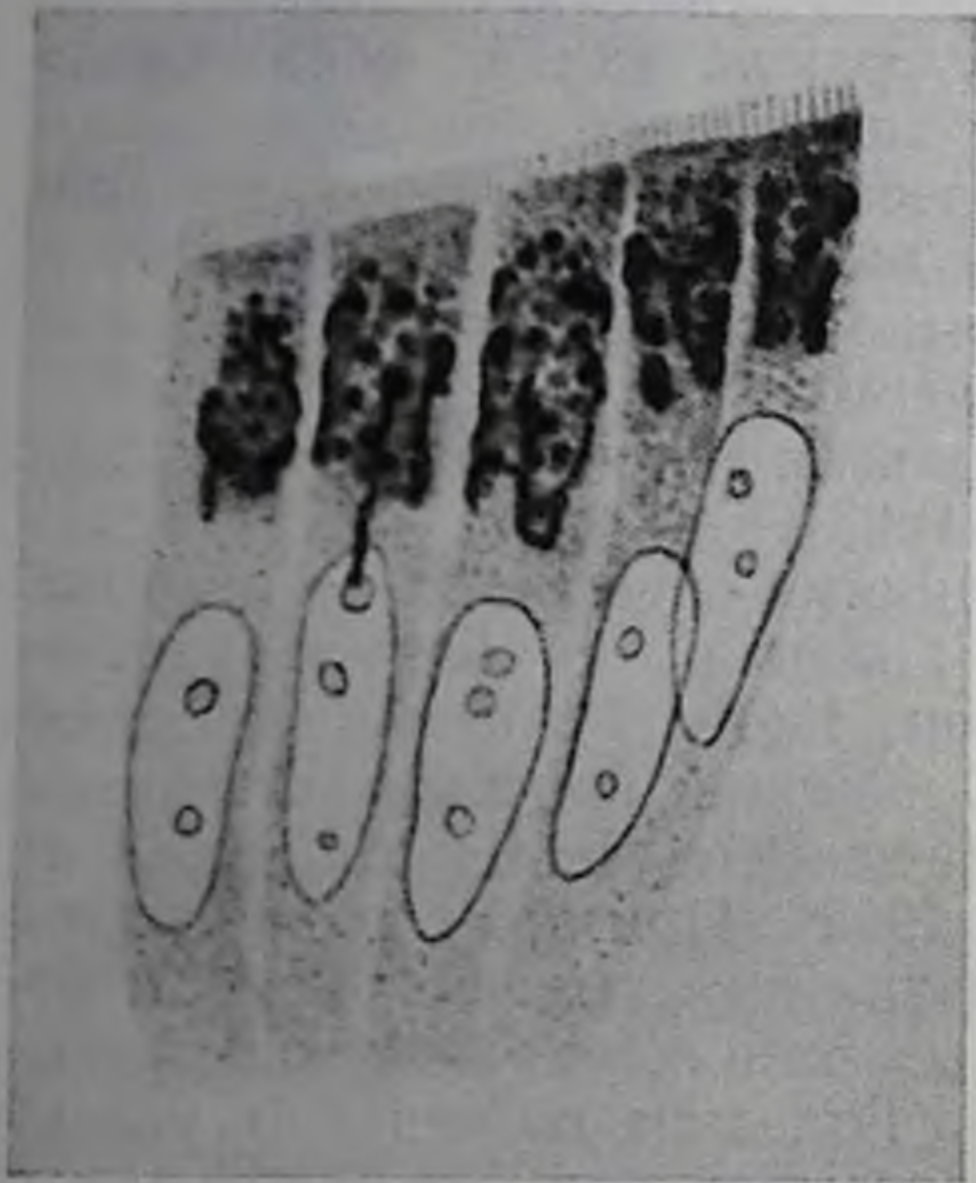


Рис. 37. Накопление гранул нейтрального красного в области комплекса Гольджи. Клетки кишечного эпителия зимней лягушки после двухдневного кормления нейтральным красным. Осмирование по Колачеву (по Д. Н. Насонову, 1963).

в комплекс Гольджи. Через 40—75 минут после приема пищи многочисленные мелкие липидные капельки обнаруживаются в растянутых цистернах и в крупных вакуолях комплекса Гольджи. Этот органоид, таким образом, участвует в накоплении липидов (и, возможно, в их видоизменении) в процессе всасывания.

Для дискуссии о функции комплекса Гольджи и для вывода, к которому мы подводим читателя, особый интерес представляют данные об аккумуляции гликогена комплексом Гольджи. Каггер (1962) на печеночных клетках куриного эмбриона показал, что накопление гликогена, начинающееся в этих клетках с 7-го дня развития, происходит в комплексе Гольджи. С момента образования гликогена наблюдались гипертрофия

органоида, появление крупных вакуолей и отложение в них гранул гликогена. Эти гранулы были идентифицированы с полисахаридом путем окраски того же среза по методу Шифф-йодная кислота (световая микроскопия) и гидроокисью свинца, который используется в электронной микроскопии для контрастирования гликогена. Аналогичные данные были получены на хондробластах развивающегося хряща (Godman, Porter, 1960). Интересно также напомнить старые данные об отложении желчных пигментов в области комплекса Гольджи в клетках печени (П. В. Макаров, 1931) и в эпителии кишечника (Möllendorff, 1925). Позже было показано, что при развитии волосяной луковицы человека в меланоцитах премеланосомные гранулы, из которых образуется меланин, формируются в зоне Гольджи (Vigbeck, 1963).

Не только собственные, но и различные чужеродные для организма вещества накапливаются и конденсируются в области комплекса Гольджи (рис. 37). Здесь наблюдали отложение кислотных и основных красителей (трипановая синь, нейтральный красный, литиевый кармин и др.), солей железа, аскорбиновой кислоты, колларгола и др. (Günter, 1929; Б. В. Кедровский, 1947). Наиболее демонстративные данные были получены на эпителии главных отделов почки тритона (рис. 38). В этих клетках при анурии комплекс Гольджи расположен над ядром и именно в этой области накапливаются гранулы трипановой сини, введенной в организм. В условиях полиурии, вызванной водной нагрузкой, комплекс Гольджи смещается в базальную часть клетки и соответственно в эту же область перемещается зона накопления красителя (G. Jasswoin, 1925).

Многообразие процессов, в которых участвует комплекс Гольджи, давно побудило думать о единой общебиологической функции, свойственной этому органюиду в таких разных клетках, как нейрон, железистые и половые клетки. Одна из наиболее интересных попыток, предпринятых в этом направлении, принадлежит Б. В. Кедровскому. Учитывая, что разные красители и некоторые чужеродные вещества проникают в клетку, будучи адсорбированными на белках, этот автор предполагал, что комплекс Гольджи во всех проявлениях его деятельности имеет отношение к первичной переработке белков. Эту гипотезу сейчас трудно примирить с современными данными о химизме этого органюида и о путях синтеза белков в клетке.

Анализ фактического материала, приведенного выше, убеждает, что, несмотря на кажущееся многообразие деятельности комплекса Гольджи в разных клетках, он по существу во всех случаях участвует в образовании различных внутриклеточных включений. С ним связано формирование секреторных включений, включений желтка, липидов, полисахаридов, пигментных включений и других параплазматических образований. Этот физиологический путь образования включений используется клеткой и в тех случаях, когда в нее поступают чужеродные вещества, из которых также формируется включение, подлежащее изоляции и удалению. Таким образом, комплекс Гольджи является органюидом, в котором накапливаются, конденсируются и упаковываются материалы, идущие на построение различных внутриклеточных включений. Он служит одним из последних участков клеточного «конвейера», завершающего формирование включений.

Развитие и восстановление. Комплекс Гольджи — преемственная структура. При делении он переходит из материн-

ской в дочерние клетки. Локальная форма органоида при этом распадается на отдельные элементы (диктиосомы), которые равномерно распределяются между дочерними клетками (диктиокинез).

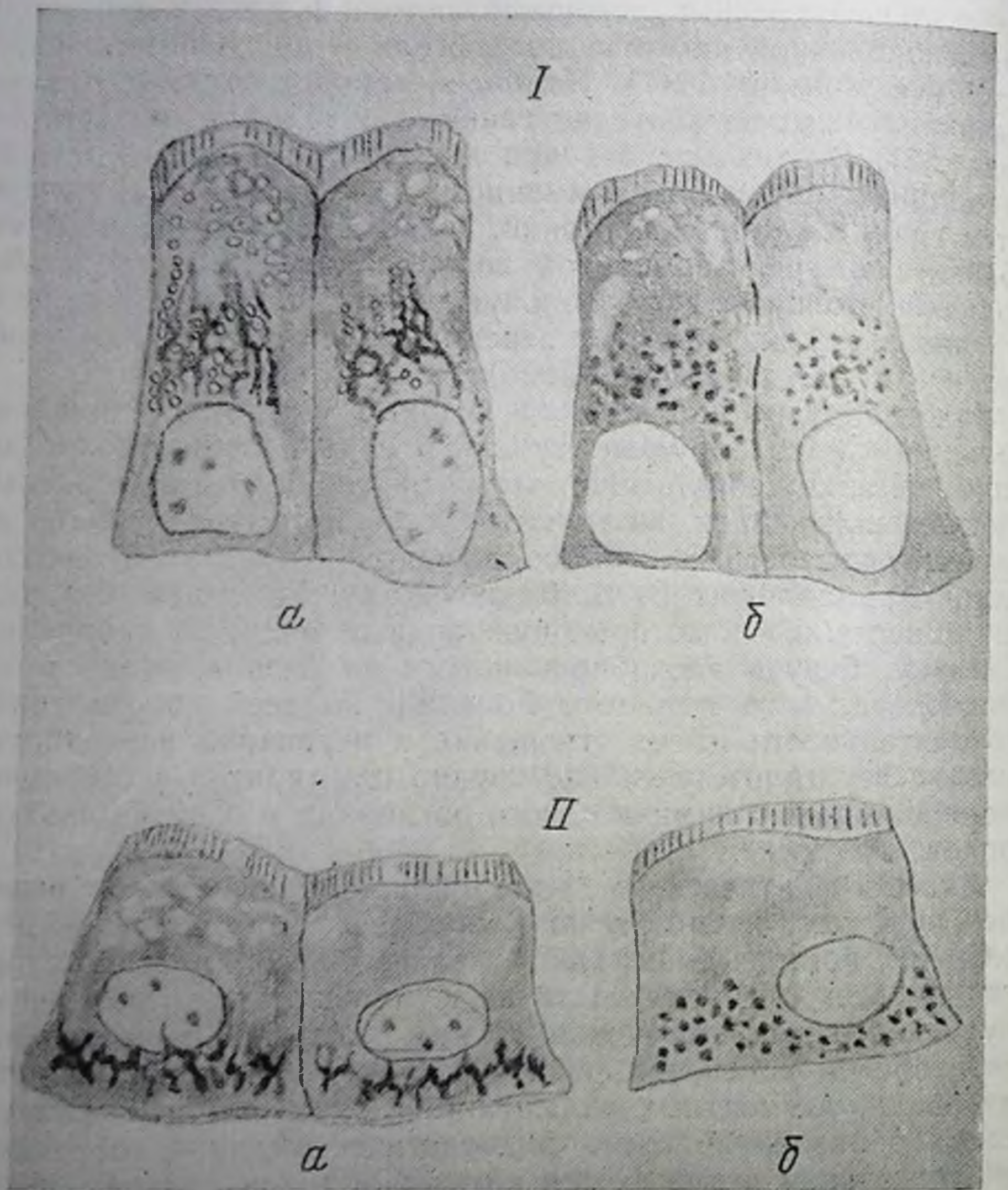


Рис. 38. Изменение области накопления трипановой сини в связи с изменением локализации комплекса Гольджи в почечном эпителии тритона при анурии (I) и полиурии (II) (по данным Г. В. Ясвина).

а — локализация комплекса Гольджи; б — область накопления трипанового синего.

Менее ясна возможность новообразования этого органоида. Проблема развития в онтогенезе и регенерации, после повреждения органоидов вообще и комплекса Гольджи в



Рис. 39. Комплекс Гольджи в опухолевой клетке зубной железы крысы. Увеличение $\times 18\,500$ (по Шубину и Никитиной).
1 — комплекс Гольджи; 2 — митохондрия.

частности — одна из наименее изученных страниц цитологии. Старые представления о развитии комплекса Гольджи из митохондрий (Parat, 1928; Hirsch, 1931) давно признаны ошибочными, но полноценной замены они пока не получили. Высказываются соображения о возможности новообразования комплекса Гольджи за счет других мембранных компонентов клетки. По наблюдениям Wischnitzer (1962, 1963), в развивающихся овоцитах тритона этот органоид формируется из ядерной и плазматической мембран. На более поздних стадиях развития овоцита процесс новообразования комплекса Гольджи прекращается и его восстановление происходит путем деления цистерн.

Высказывается также предположение о возможности развития комплекса Гольджи из эндоплазматических мембран. Иногда обсуждаются предположения об образовании микропузырьков этого органоида из рибосом (Kurosumi, 1961); однако, учитывая глубокие различия структуры и химического состава, трудно допустить генетическую связь между этими структурами.

Патология. Изменения комплекса Гольджи при различных патологических процессах изучены очень мало. Прежде всего отсутствуют сведения об изменении этого органоида в железистых органах при заболеваниях, связанных с патологией секреции.

Можно привести лишь единичные, разрозненные данные о поведении комплекса Гольджи при некоторых патологических процессах.

Наблюдения над корешками лука показали, что комплекс Гольджи чувствителен к избытку кислорода в среде. В этих условиях отмечали более активное образование микропузырьков и увеличение их объема почти в 25 раз (Falk, 1962). В то же время при гипоксии и ишемии в нейронах мозга крыс наблюдали деструктивные изменения этого органоида: разрыхление, фрагментацию и распад мембран Гольджи. Одновременно резко падала активность нуклеозид-дифосфатазы (Besker, 1962).

Изменения комплекса Гольджи в раковых клетках (рис. 39), вероятно, не типичны: в одних опухолевых клетках (гепатома мышей, аденома гипофиза) наблюдали гипертрофию комплекса, а в других (асцитные опухоли Иосида и Эрлиха, карцинома Брауна — Пирс) — его редукцию. Представляют интерес опухоли, отличающиеся сильным развитием основного межклеточного вещества. Гистохимические исследования (реакция Гале) показали, что усиленная продукция кислых мукополисахаридов в этих опухолях связана с повышенной активностью комплекса Гольджи (Badinez, Gasic, Loebel, Baydak, 1962).

ЛИТЕРАТУРА

- Вейнер П. А. Русск. арх. анат., гист. и эмбр., 1926, 5, 11.
- Гатенби Дж. Аппарат Гольджи. В кн.: Проблемы цитофизиологии. ИЛ, 1957, стр. 242—272.
- Дальтон А. Аппарат Гольджи и секреторные гранулы. В кн.: Функциональная морфология клетки. ИЛ, 1963, стр. 157—166.
- Кафф Э., Дальтон А. Биохимическое изучение изолированных мембран аппарата Гольджи. В кн.: Структурные компоненты клетки. ИЛ, 1962, стр. 117—127.
- Кедровский Б. В. Успехи совр. биол., 1947, 23, 3, 375—404.
- Насонов Д. Н. Сетчатый аппарат и его отношение к секреции (Исследование некоторых желез амфибий), 1923. В кн.: Некоторые вопросы морфологии и физиологии клетки. Избранные труды, 1963, стр. 26.
- Насонов Д. Н. Сетчатый аппарат Гольджи и его отношение к секреции (1924). В кн.: Избранные труды, 1963, стр. 59—87.
- Насонов Д. Н. Физиологическое значение аппарата Гольджи (1926). В кн.: Избранные труды, 1963, стр. 130—151.
- Насонов Д. Н. Деятельность аппарата Гольджи эпителиальных клеток придатка семенника. В кн.: Избранные труды, 1963, стр. 152—172.
- Палад Дж. Функциональные изменения структурных компонентов клетки. В кн.: Структурные компоненты клетки. ИЛ, 1962, стр. 58—77.
- Сикевитц Р. О значении внутриклеточных структур для регуляции обмена. В кн.: Регуляция клеточного обмена. ИЛ, 1962, 27—64.
- Токин И. Б. Электронномикроскопические исследования соматических и половых клеток. Л., 1961.
- Токин И. Б. Арх. анат., гистол. и эмбриол., 1963, 45, 12, 3—22.
- Хирш Г. О принципе «конвейера» в выработке ферментов экзокринными клетками поджелудочной железы. В кн.: Функциональная морфология клетки. ИЛ, 1963, стр. 167—184.
- Шнейдер В., Кафф Э. О выделении вещества Гольджи по некоторым его биохимическим свойствам. В кн.: Проблемы цитофизиологии. ИЛ, 1957, стр. 273—282.
- Шестранд Р. Ультраструктура клеток, наблюдаемая в электронном микроскопе. В кн.: Вопросы электронной микроскопии. ИЛ, 1959, стр. 9—66.
- Ясвоин Г. В. (Jasswoin G.). Z. Zellforsch., 1925, 2, 5, 741—765.
-
- Alzelius B. A. Exp. Cell Res., 1956, 11, 67.
- Badinez O., Gasic G., Loebel F., Baydak T. Nature, 1962, 193, 4816, 704—705.
- Baker J. R. Quart. J. Micr. Sci., 1944, 85, 1.
- Baker J. R. Quart. J. Micr. Sci., 1949, 90, 293.
- Beams H. W., King R. W. Anat. Rec., 1934, 59, 363.
- Beams H. W., Kessel R. G. J. Cell Biol., 1963, 18, 3, 621—649.
- Becker N. H. Am. J. Path., 1962, 40, 2, 243—252.
- Bessis M., Breton-Gorins J., Thiery J. P. Rev. Hematol., 1958, 13, 3, 363—386.
- Birbeck M. S. Ann. New York Acad. Sci., 1963, 100, 2, 540—547.
- Blanchette E. J. J. Ultrastruct. Res., 1961, 5, 4, 349—363.
- Bowen R. H. Quart. Review Biol., 1929, 4, 4, 455.
- Bowen R. H. Anat. record, 1922, 24, 159.
- Burgos M. H., Faucett D. W. J. Biochem., Biophys. Cytol., 1955, 1, 287.
- Buvat R. Compt. rend. Acad. Sci., 1958, 246, 2157.
- Carasso N., Favard P. Appareil de Golgi. В кн.: Traité de microscope électronique. Paris, 1961, t. 2.

- Caro L. G., Palade G. E. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1961, 155, 9, 1750—1762.
- Daems W. T. *Acta anat.*, 1961, 46, 1.
- Dalton A. J., Felix M. D. *Am. J. Anat.*, 1953, 92, 277—305.
- Dalton A. J., Felix M. D. *J. Biophys., Biochem. Cytol.*, 1956, suppl. 2, 79—83.
- Dalton A. J., Felix M. *Symp. Soc. exp. Biol.*, 1957, 10, 148.
- Dalton A. J., Felix M. D. *Am. J. Anat.*, 1954, 94, 2, 171—207.
- Drawert H., Mix M. *Planta*, 1962, 58, 4, 448—452.
- Enders A. C. *J. Cell Biol.*, 1962, 12, 101.
- Essner E., Novikoff A. B. *J. Cell Biol.*, 1962, 15, 2, 292—314.
- Falk H. *Ztschr. Naturforsch.*, 1962, 17b, 12, 862—863.
- Farguhar M. G., Willings S. R. *J. Biophys., Biochem. Cytol.*, 1957, 3, 2, 319—322.
- Fawcett D. W. В кн.: *Developmental Cytology*. Ed. D. Rudnik. New York. Ronald Press, 1959.
- Fawcett D. W. *Lab. Invest.*, 1961, 10, 1162—1188.
- Fawcett D. W., Hollenberg R. D. *Ztschr. Zellforsch.*, 1963, 60, 2, 276—292.
- Ferreira D. *Diferenciacao do chondrioma, Aparelho de Golgi e ergastoplasma*. Lisabon, 1959.
- Gatenby J. B. *Anat. J. Micr. Sci.*, 1922, 66, 1—46.
- Godman G. C., Porter K. R. *J. Biophys., Biochem. Cytol.*, 1960, 8, 719.
- Goldfischer S. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 1964, 23, 1, 36—45.
- Goldfischer S., Essner E., Novikoff A. J. *Histochem. Cytochem.*, 1964, 12, 2, 72—95.
- Grassé P. P., Crasso N., Favard P. *Ann. Sci. Nat. Zool. et Biol. Anim.*, 1956, 18, 339.
- Guraya S. S. *Experientia*, 1962, 18, 4, 167—168.
- Hagnenau F., Bernhard W. *Arch. Anat. microscop. morphol. exp.*, 1955, 44, 1, 27—55.
- Herman L., Fitzgerald P. K. *J. Cell Biol.*, 1962, 12, 277.
- Hertwig G. *Allgemeine mikr. Anat. der lebenden Masse (der Golgiapparat)*, 255—303. В кн.: *Hdb Mikr. Anat. des Menschen*. W. Möllendorff, 1929, 1, I, 1—420.
- Hirsch G. C. *Ztschr. Zellforsch. u. mikr. Anat.*, 1931, 15, 37.
- Hirsch G. C. *Form- und Stoffwechsel der Golgi Körper*. Berlin, 1939.
- Hirsch G. C. *Acta med. Okayama*, 1961, 15, 5, 289—293.
- Hirsch G. C. *Das Lamellen-Vakuolen Feld*. В кн.: *Dynamik der tierischen Zelle*, 1962, 1, 409.
- Hirschler J. *Arch. mikr. Anat.*, 1918, 91, 1, 141.
- Hirschler J. *Arch. mikr. Anat.*, 1919, 89.
- Jasuzumi G. *Biochem., Biophys. Cytol.*, 1956, 2, 445.
- Jarosch R. *Protoplasma*, 1962, 55, 2, 406—410.
- Jasswoin G. (Ясвоин Г.). *Quart. J. micr. Sci.*, 1924, 69, 1, 97—118.
- Jasswoin G. (Ясвоин Г.). *Z. Zellforsch.*, 1925, 2, 5, 741—765.
- Kajikowa K. *J. Electronmicr.*, 1961, 10, 3, 131.
- Kallenbach E., Sandborn E., Warschawsky H. *J. Cell Biol.*, 1963, 16, 3, 629—632.
- Karrer H. J. *Ultrastruct. Res.*, 1960, 4, 149—166.
- Kitada J. *Bull. Univ. Osaka Prefect.*, 1961, 12, 13—53.
- Kurosumi K. *Electron microscopic analysis of the secretion mechanisms*. *Internat. Rev. Cytol.*, 1961, 11, 1—124.
- Lacy D., Taylor A. H. *Am. J. Anat.*, 1962, 110, 155.
- Litwer G. M. *Ztschr. Zellforsch.*, 1928, 8, 135—152.
- Lojda Z., Zawistowski S. *Strefa golgiego i fermenty*. *Folia morphol.*, 1960, 11, 4, 265—274.

- Malhotra S. K. *Quart. J. Microscop. Sci.*, 1961, 102, 1, 83—87.
- Manocha S. L. *Cytologia*, 1962a, 27, 4, 352—360.
- Manocha S. L. *Cytologia*, 1962b, 27, 4, 361—368.
- Meek G. A., Bradbury S. J. *Cell Biol.*, 1963, 18, 1, 73—85.
- Merker H. J. *Beitr. Silikose Forsch.*, 1962, 75, 28.
- Möllendorff W. *Ztschr. Zellforsch.*, 1925, 2, 2, 129.
- Mollenhauer H. H., Zehrun W. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1960, 8, 76.
- Mollenhauer H. H., Whaley W. G., Leech J. H. *J. Ultrastruct. Res.*, 1961, 5, 2, 193—200.
- Montskó T., Tigyi A., Benedeczky I., Lissák K. *Acta biol. acad. Sci. Hung.*, 1963, 14, 2, 81—94.
- Montagna W. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1952, 55, 629.
- Montskó T., Tigyi A., Benedeczky J., Lissák K. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, 1963, 14, 2, 81—94.
- Murakami M. *Ztschr. Zellforsch.*, 1962, 56, 277.
- Novikoff A. D., Goldfischer S. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 1961, 47, 6, 802—810.
- Parat M. *Compt. rend. Acad. Sci.*, 1962, 182, 12, 808.
- Parat M. *Arch. Anat. micr.*, 1928, 24, 2—3, 73.
- Palay S. L., Palade G. E. *Biochem. Cytol.*, 1955, 1, 69.
- Palay S. L. *Frontiers in Cytology*. Yale Univ. Press, New Haven, Connecticut, 1958, 305.
- Peterson M., Leblond C. P. *J. Cell Biol.*, 1964, 21, 1, 143—148.
- Pipan N. *Ztschr. Zellforsch.*, 1960, 52, 291.
- Pollister A. W., Pollister P. F. *Intern. Rev. Cytol.*, 1957, 6, 85.
- Rhodin J. *Correlation of ultrastructural organisation and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney*. Stockholm, 1954.
- Rose G. F. *J. Bioph. Biochem. Cytol.*, 1961, 9, 2, 463—478.
- Ries E. *Ztschr. Zellforsch. mikr. Anat.*, 1935, 22, 521.
- Scheldon H., Kimbell E. B. *J. Cell Biol.*, 1962, 12, 599—613.
- Schnepf E. *Ztschr. Naturforsch.*, 1961, 16b, 9, 605—610.
- Sharma S. P., Manocha S. L. *Experientia*, 1962, 18, 3, 135—136.
- Siekevitz P., Palade G. E. *J. Bioph. Biochem. Cytol.*, 1958, 4, 309.
- Siekevitz P., Palade G. J. *Biophys. Biochem. Cytol.*, 1959, 5, 1, 1—10.
- Sjöstrand F. S., Hanzon V. *Exptl Cell Res.*, 1954, 1, 415—429.
- Steiner J. W., Carruthers J. C. *Am. J. Pathol.*, 1961, 38, 639.
- Stefanellia. Caravita S. *Atti Acad. naz. Lincei Rend. Cl. sci. fis., mat. e natur.*, 1962, 32, 5, 614—618.
- Takagi S., Kitada J., Masuda H., Tagawa M. *Cytologia*, 1961, 26, 2—4, 448—453.
- Thomas O. L. *Cellule*, 1961, 61, 3, 293—312.
- Tice L. W., Barnett R. J. *Anat. Rec.*, 1963, 147, 1, 43—63.
- Voinov D. *Arch. Zool. exp. gén.*, 1927, 67, 1.
- Whaley W. G., Mollenhauer H. H. *J. Cell Biol.* 1963, 17, 1, 216—221.
- Wischnitzer S. *Ztschr. Zellforsch.*, 1962, 57, 2, 202—212.
- Wischnitzer S. *Chromosoma*, 1963, 13, 5, 600.
- Watton R. M., Martin A. I. *Proc. Pennsylvania Acad. Sci.*, 1953, 27, 277—285.

V

ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ СЕТЬ, РИБСОМЫ

Эндоплазматическая сеть

Эндоплазматическая сеть, или ретикулум, — сравнительно недавно обнаруженный и поэтому наименее исследованный компонент клетки. Эндоплазматическая сеть была описана в 50-х годах и ее изучение шло параллельно развитию электронномикроскопической техники. Она впервые была выявлена при электронной микроскопии тотальных препаратов клеток культуры фибробластов мыши (Porter, Claude, Fullman, 1945).

Электронномикроскопические исследования ультратонких срезов показали, что нежные сетевидные структуры, которые были видны в целой клетке, образованы сложной системой канальцев, вакуолей и цистерн (Palade, Porter, 1952, 1954). Так как в клетках культуры ткани эта вакуолярная система располагалась в эндоплазме, то она была названа «эндоплазматическая сеть». Этот термин широко распространен в американской, английской и в японской литературе (Дж. Палад, 1962; К. Портер, 1963, и др.), хотя полностью не отражает особенностей этого компонента. Часто пользуются другими названиями. Французские исследователи предпочи-

тают термин «эргастоплазма» (Bernhard, 1959; А. Дальтон, 1963, и др.), Де Робертис — термин «вакуолярная система», Ф. Шёстранд (1959), акцентируя внимание на мембранном компоненте вакуолярной системы, называет ее « α - и β -цитомембранами». Как обычно, различная терминология отражает не только лингвистические разногласия, но прежде всего разную интерпретацию видимых картин и недостаток сведений о структуре и функции органоида.

Морфология. Эндоплазматическая сеть представляет собой систему внутриклеточных канальцев, вакуолей и цистерн, ограниченных цитоплазматическими мембранами. Анастомозируя между собой, канальцы и цистерны образуют сложную трехмерную сеть, пронизывающую цитоплазму клетки. Пространства эндоплазматической сети заполнены каким-то гомогенным веществом, слабо поглощающим электроны. Химическая природа его неизвестна.

Эндоплазматическая сеть была описана во всех исследованных животных клетках, за исключением зрелых эритроцитов (Palade, Porter, 1952; К. Портер, 1963). Она была найдена также у простейших (амеба, парамеции) и в клетках всех растений, за исключением синезеленых водорослей и клеток, лишенных ядер (Buvat, 1961). Остается неясным наличие эндоплазматической сети у бактерий. отождествление цитоплазматических мембран бактерий с эндоплазматической сетью по-прежнему спорно.

Характер организации и степень развития эндоплазматической сети варьируют в разных клетках и особенности ее структуры типичны для каждого вида клеток. Наиболее сильно эндоплазматическая сеть развита в секреторных клетках (рис. 26, 40) с высоким уровнем белкового обмена (ацинозные клетки поджелудочной железы, клетки печени). Слабо развита эндоплазматическая сеть в сперматоцитах, лейкоцитах, эпителии кишечных крипт, клетках коры надпочечника. Ряд наблюдений позволяет полагать, что интенсивность развития эндоплазматической сети может зависеть от степени дифференцирования клетки (К. Портер, 1963). Так, в малодифференцированных, интенсивно делящихся базальных клетках сальных желез она развита слабо, а в более зрелых, центрально расположенных клетках этих желез эндоплазматическая сеть хорошо выражена. В интерстициальных клетках развивающегося книдобласта гидры эндоплазматическая сеть представлена одиночными пузырьками (рис. 41), а по мере дифференцирования этих клеток (рис. 42) она приобретает характер сложной системы канальцев и цистерн (Slautterback, Fawcett, 1959). Такие же изменения эндоплазматическая сеть претерпевает в процессе дифференцирования нейробластов куриного зародыша, рас-



Рис. 40. Эндоплазматическая сеть в клетке печени мыши. Увеличение X 13 800 (по Шубину).

1 — эндоплазматическая сеть; 2 — митохондрия; 3 — ядро; 4 — ядерная оболочка.

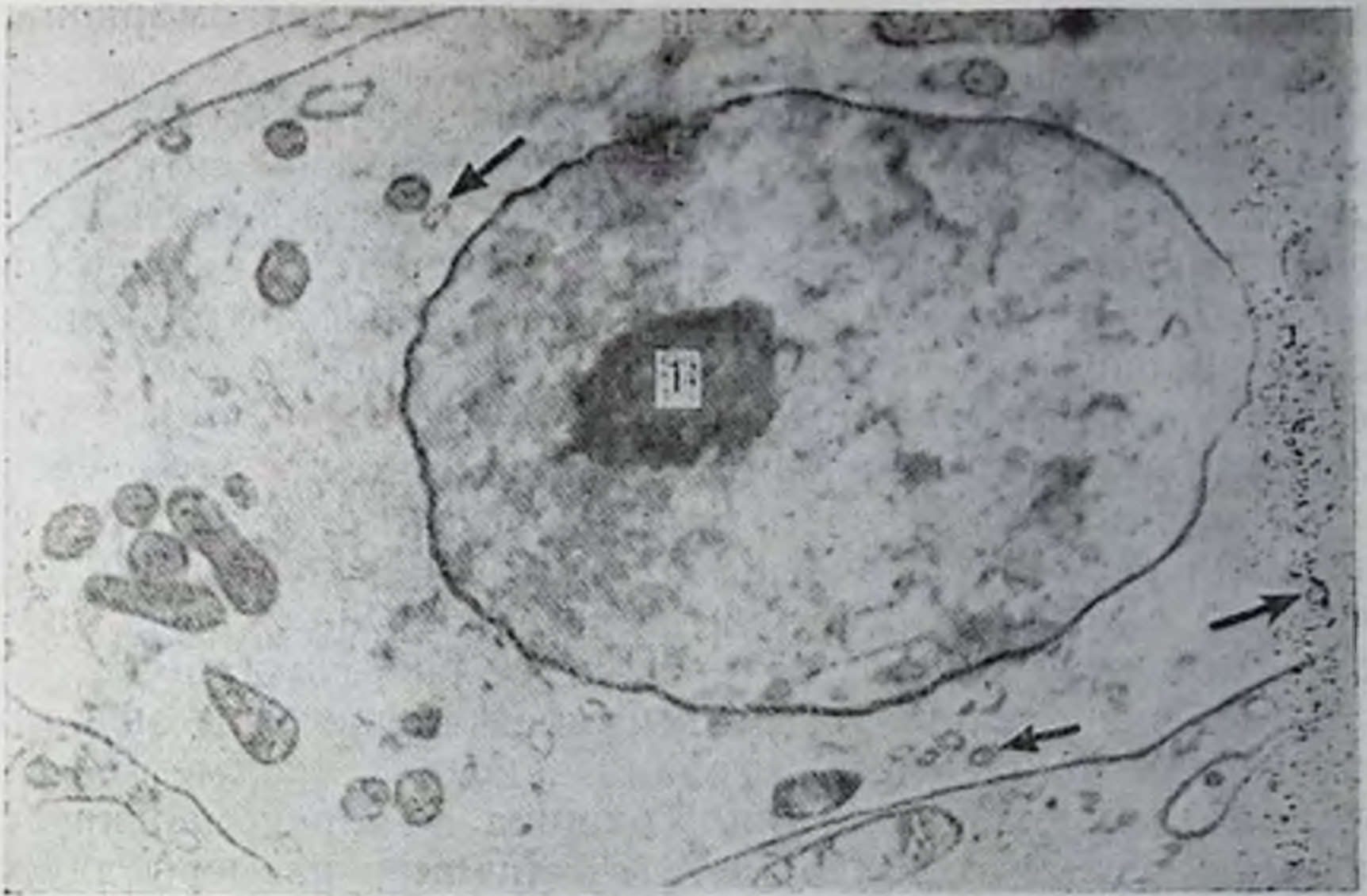


Рис. 41. Недифференцированная клетка книдобласта гидры. Эндоплазматическая сеть (указана стрелками) развита слабо. Увеличение $\times 12\,000$ (по Портеру, 1963).

1 — ядро.

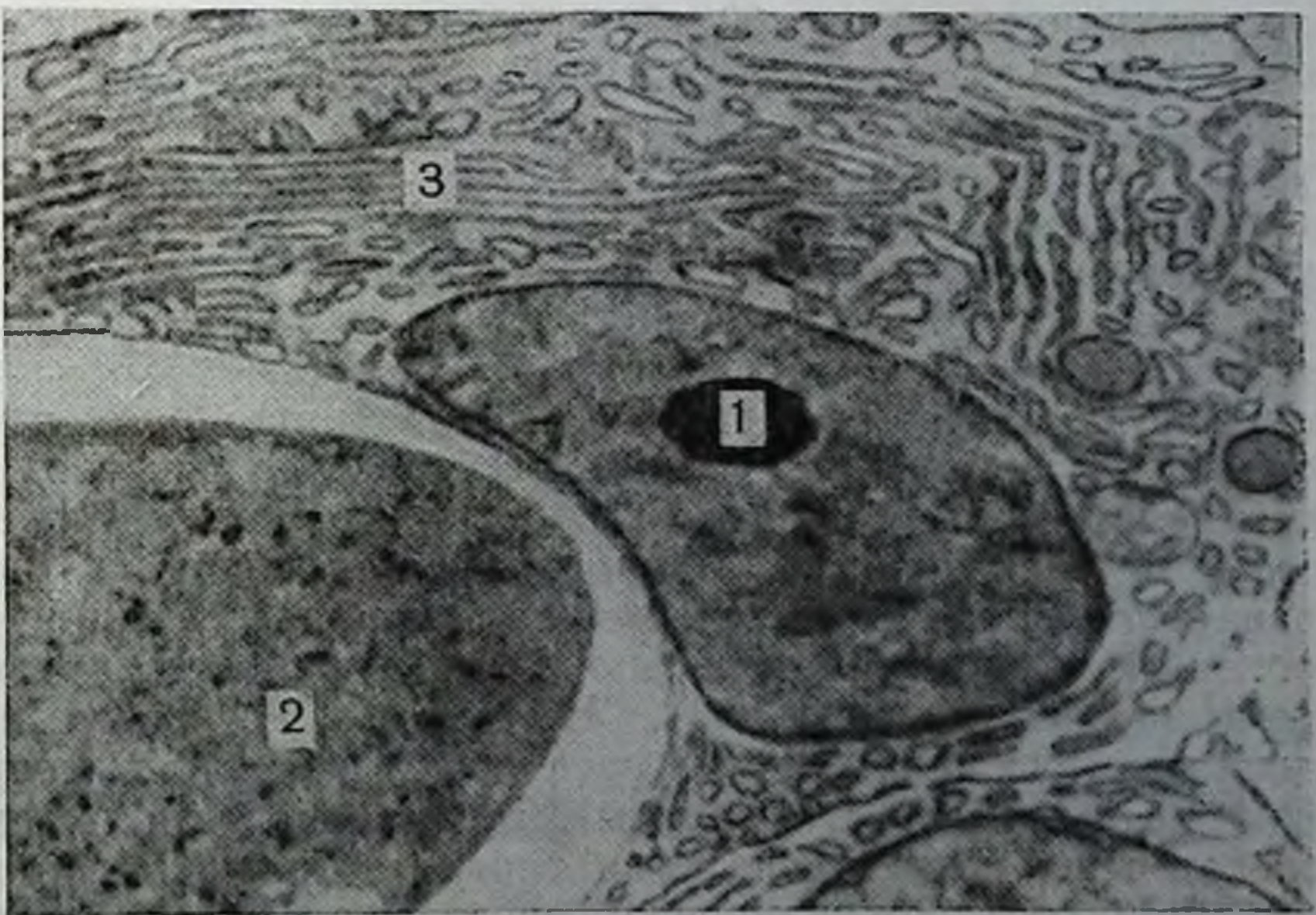


Рис. 42. Дифференцированный книдобласт гидры. Клетка синтезирует материал стрекательной капсулы. Эндоплазматическая сеть сильно развита. Увеличение $\times 13\,000$ (по Портеру, 1963).

1 — ядро; 2 — стрекательная капсула; 3 — эндоплазматическая сеть.

тельных клеток, а также на ранних стадиях эмбрионального развития других клеток.

Форма и интенсивность развития эндоплазматической сети изменяются и в связи с функциональной активностью клетки. В железистых клетках форма и плотность расположения эндоплазматических цистерн меняются при секреции. В плазматических клетках при образовании антител происходит разрастание эндоплазматической сети. В клетках жирового тела шелкового червя в период диапаузы эндоплазматическая сеть развита слабо, но после введения гормона, стимулирующего метаморфоз, она значительно увеличивается. Прослежены также изменения эндоплазматической сети в процессе онтогенеза. Описаны, в частности, изменения этой структуры в процессе сперматогенеза.

Столь же различны в разных клетках размеры эндоплазматических пространств, ограничивающих их мембран и плотность их расположения. Толщина мембран варьирует в разных клетках от 40 до 75 Å. Различны и размеры внутрицистернальных полостей: 70 мμ (канальцы) — 500 мμ (цистерны). Большая вариабильность размеров и формы эндоплазматической сети усиливается еще высокой функциональной изменчивостью и динамичностью этой системы. Так, например (Г. Хирш, 1963), при голодании — мембраны канальцев в ацинозных клетках поджелудочной железы имеют толщину, равную 60—70 Å, а сами канальцы расположены так плотно, что расстояние между ними равно приблизительно 1000 Å. Через час после приема пищи мембраны становятся несколько тоньше (≈ 50 Å), ширина канальцев увеличивается в несколько раз (1000—7000 Å), а расстояние между ними — вдвое.

Каждому типу клеток свойственна определенная архитектура эндоплазматической сети. В клетках со слабо развитой вакуолярной системой (сперматоцит) она представлена единичными вакуолями, беспорядочно расположенными в цитоплазме. В ацинозных клетках поджелудочной железы интенсивно развитая эндоплазматическая сеть образована уплощенными цистернами с узким просветом, ориентированными почти параллельно и чередующимися равномерными слоями (рис. 43). На наружной поверхности эндоплазматических мембран расположены рибонуклеопротеидные гранулы (РНП-гранулы). Вокруг ядер этих клеток сосредоточены концентрическими слоями вакуоли эндоплазматической сети. Закономерное расположение уплощенных цистерн в ацинозных клетках поджелудочной железы соответствует базофильным участкам этих клеток и образующим их базальным пластинкам. Последние были обнаружены еще в конце прошлого столетия в световом микроскопе. Они были

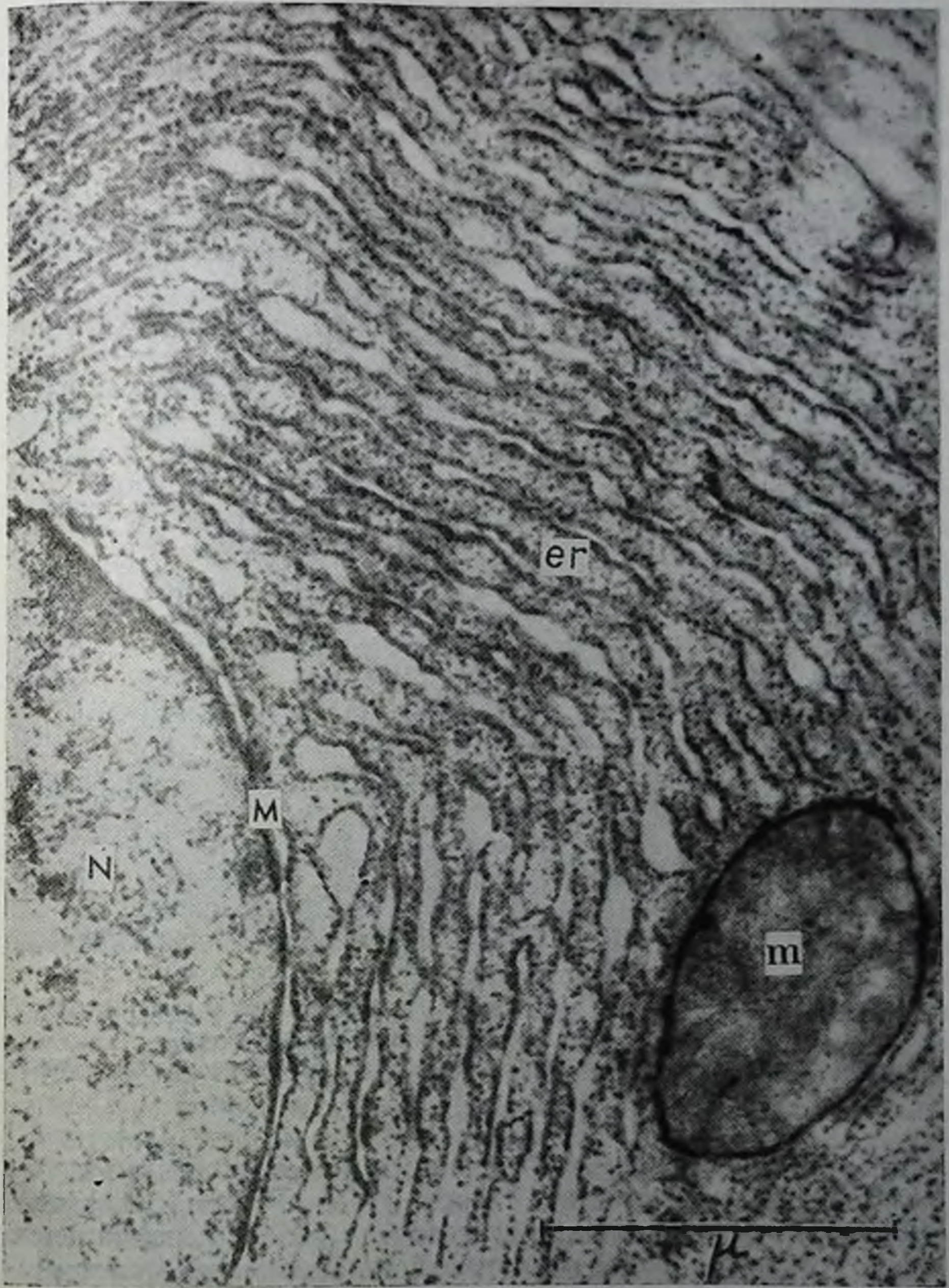


Рис. 43. Гранулярная эндоплазматическая сеть (*er*) ацинозной клетки поджелудочной железы мыши (по Bernhard, 1959).
N — ядро; *M* — ядерная мембрана; *m* — митохондрия.

названы «эргастоплазма» (Garnier, 1897). Интересно, что базофильные структуры других клеток (глыбки Берга в клетках печени, тельца Ниссля в нейронах — рис. 44) также характеризуются плотным упорядоченным расположением эндоплазматических мембран и их гранулярной структурой. Связь между базофилией цитоплазмы и эндоплазматической



Рис. 44. Ультраструктурная организация глыбок Ниссля в нейроне из ядра отводящего нерва. Видны параллельно расположенные каналцы гладкой эндоплазматической сети. Увеличение $\times 46\,400$ (по Хидену, 1963).

сетью обусловлена РНП-гранулами, расположенными на мембранах этой системы (Palade, 1955; Palade, Siekevitz, 1955). Эргастоплазма представляет собой специальную структуру цитоплазмы, в которой эндоплазматические мембраны связаны с рибонуклеопротеидными гранулами и расположены упорядоченно. Остается дискуссионным вопрос о том, в какой степени эта структура специфична.

Рибонуклеопротеидные гранулы (гранулы Палада, рибосомы), описанные Palade, Porter и Siekevitz, имеют небольшие размеры (150—350 Å), электронноплотны, содержат

много РНК (см. ниже). Эти гранулы большей частью связаны с мембранами эндоплазматической сети. Располагаясь на наружной поверхности мембран, они образуют на них скопления в форме розеток или спиралей. Так как связь гранул с эндоплазматическими мембранами обнаружена не во всех отделах эндоплазматической системы, то различают два типа эндоплазматической сети: гранулярную, или шероховатую, эндоплазматическую сеть (мембраны связаны с рибосомами — α -цитомембраны) и агранулярную, или гладкую, эндоплазматическую сеть — β -цитомембраны).

Ряд авторов полагает, что система канальцев и цистерн эндоплазматической сети связана с выпячиваниями клеточной оболочки в цитоплазму (Palade, 1956; Palay, 1958. и др.), а также с перинуклеарным пространством, причем наружная мембрана ядра имеет структуру, типичную для эндоплазматических гранулярных мембран, и сливается с ними. Более того, двойную оболочку ядра с перинуклеарным пространством рассматривают иногда как уплощенный эндоплазматический пузырек, как бы обернутый вокруг ядра (Porter, 1961).

В нейронах спинальных ганглиев и коры головного мозга под оболочкой клетки обнаружены плоские подповерхностные цистерны (длина около $1,5 \mu$ ширина 60 \AA), связанные с эндоплазматической сетью (Rosenbluth, 1962). Имеются также данные о связи эндоплазматической сети с цистернами зоны Гольджи (Palay, Palade, 1955; Palade, 1960). Существует, вероятно, интимная связь эндоплазматической сети и митохондрий. В некоторых местах мембраны эндоплазматической сети окружают митохондрии подобно колпачку (Berg-hard, Rouiller, 1956). Таким образом, эндоплазматическая сеть рассматривается как единая циркуляторная система клетки, связанная с плазматической оболочкой клетки, с ее ядром и клеточными органоидами. Контакты эндоплазматической сети с плазматической оболочкой клетки встречаются редко. Они не дают оснований говорить о стабильных открытых коммуникациях между внешней средой и цитоплазмой. Учитывая особенности проникновения в клетку различных веществ (см. главу VIII) и пограничные свойства клеточной поверхности, трудно допустить существование открытых коммуникаций внешней среды с цитоплазмой и ядром клетки. Такие коммуникации на фиксированном препарате могут отражать лишь один из моментов динамической связи поверхности клетки с эндоплазматической сетью: из клеточной оболочки периодически (например, при пиноцитозе) могут возникать дивертикулы в цитоплазму и отшнуровываться вакуоли, сливающиеся затем с эндоплазматической сетью. При таком типе динамической коммуникации между внеш-

ней и внутренней средой клетки постоянно сохраняется пограничная поверхность обмена.

По данным Essner и Novikoff (1962), открытые коммуникации между эндоплазматической сетью и комплексом Гольджи сравнительно редки и между ними также осуществляется преимущественно динамическая связь. С точки зрения этих авторов, микропузырьки комплекса Гольджи возникают из прилежащих к нему участков эндоплазматической сети («переходные» участки). Отделяясь от эндоплазматической сети, микропузырьки включаются в комплекс Гольджи, осуществляя таким образом транспорт веществ из одного органоида в другой.

Интерпретация электронномикроскопической картины эндоплазматической сети различна. Porter (1961) полагает, что эндоплазматическая сеть — система полостей, ограниченная мембранами и заполненная жидкой средой. С точки зрения Шёстранда (1955, 1956, 1959), основное вещество цитоплазмы образовано системой парных мембран. Края мембран одной пары сливаются друг с другом и в совокупности с заключенным между ними светлым слоем образуют слоистую пластинку, служащую основным структурным компонентом гиалоплазмы. Мембраны, формирующие различные клеточные структуры, не одинаковы; в связи с этим Шёстранд различает три основных типа мембран цитоплазмы: 1) α -цитомембраны имеют толщину около 40 Å, расположены парами и на наружной поверхности несут гранулы Палада (мембраны гранулярной эндоплазматической сети ацинозных клеток поджелудочной железы); 2) β -цитомембраны (складки клеточной оболочки, мембраны гладкой эндоплазматической сети); 3) γ -цитомембраны обычно лежат парами, имеют толщину около 60 Å, расположены параллельно друг другу по нескольку пар, лишены гранул (мембраны комплекса Гольджи).

Химический состав. Те немногочисленные сведения о химических особенностях эндоплазматической сети, которыми мы пока располагаем, получены преимущественно путем анализа микросомной фракции гомогенатов клетки (см. главу VI). Эта фракция образована фрагментами эндоплазматических мембран, рибосомами и обрывками других компонентов клетки. На химической характеристике рибосом мы остановимся ниже, а здесь приведем лишь те предварительные данные, которые удалось получить в отношении эндоплазматических мембран. Siekevitz и Palade (1959) удалось путем ультрацентрифугирования и воздействия дезоксихолата выделить из общей микросомной фракции субфракции рибосом и мембран. Биохимический анализ последних (Siekevitz, 1962) позволил полагать, что мембраны образованы

белками, а в клетках печени и фосфолипидами. Эндоплазматические мембраны по этим данным содержат ряд ферментов: НАД · Н₂-цитохром-с-редуктазу, НАДФ · Н₂-цитохром-с-редуктазу и глюкозо-6-фосфатазу. По данным Emmelot и Vos (1962), подтвердивших эти наблюдения, эндоплазматические мембраны содержат также АТФазу, 5-нуклеотидазу и лишены кислой и щелочной фосфатаз. В эндоплазматических мембранах обнаружено и небольшое количество РНК.

Эти данные были дополнены электронно-цитохимическими исследованиями (Novikoff, Neus, 1963), которыми в мембранах эндоплазматической сети (так же как в мембранах ядра, в плазматической мембране и в мембранах Гольджи) были выявлены нуклеозиддифосфатазы.

Функции. Всеобщее распространение эндоплазматической сети, особенности ее структуры и тесный контакт с другими компонентами клетки позволяют предполагать ее важную роль в обменных процессах клетки. Эндоплазматическую сеть рассматривают как циркуляторную систему клетки, которая обеспечивает транспорт веществ из окружающей среды в цитоплазму и коммуникации между отдельными внутриклеточными структурами. Предполагают, что при этом мембраны эндоплазматической сети совершают активные движения, нагнетая различные вещества в полости канальцев и цистерн (Palade, 1953; Bennett, 1956). Мембраны эндоплазматической сети играют, вероятно, не пассивную роль и в судьбе веществ, проникших в просвет между ними. Мы уже отмечали выше, что эндоплазматическую сеть следует рассматривать как динамическую циркуляторную систему, в которой вещества, попавшие в нее из окружающей среды, остаются отграниченными от основного вещества цитоплазмы пограничными поверхностями. Такие поверхности (мембраны) обладают различной проницаемостью для разных веществ и, возможно, будучи связанными с ферментами, оказывают на них первичное воздействие. Эндоплазматическая сеть осуществляет также функцию сегрегационного аппарата клетки: различные вещества, поступающие в цитоплазму из внешней среды или из других внутриклеточных структур, накапливаются в интрацистернальных пространствах и затем переносятся в другие части клетки или выводятся из нее.

Функция эндоплазматической сети как циркуляторной системы клетки была прослежена в ряде исследований. По данным Palay (1958), Palay и Karlin (1959), А. Дальтона (1963), после введения в желудок кукурузного масла капельки жира уже через 30 минут были обнаружены в пиноцитозных пузырьках, в различных частях эндоплазматической сети и в перинуклеарном пространстве. Этот путь транспорта жира через пиноцитозные пузырьки и эндоплазматиче-

скую сеть удалось проследить также в клетках жирового тела личинок дрозофилы в процессе развития и накопления в цитоплазме липидов (Gaudecker, 1963). Пока, однако, трудно судить, могут ли распространяться эти наблюдения не только на транспорт липидов, но и на циркуляцию других химических соединений в клетке. По наблюдениям Schmidt (1961), всасывание и транспорт высокомолекулярного соединения железа с декстраном через эпителий кишечника осуществляются помимо эндоплазматической сети. Для окончательного решения этого вопроса назрела необходимость в витальных электронномикроскопических наблюдениях, которые в наше время уже становятся реальными.

Представляется вероятным участие эндоплазматической сети в синтезе белков и ферментов. Давно обратило на себя внимание, что гранулярная эндоплазматическая сеть наиболее развита в клетках, вырабатывающих различные белковые продукты (белковые железы). В то же время активно секретирующие клетки, но вырабатывающие небелковые продукты (обкладочные клетки желез желудка, выделяющие хлориды; хромаффинные клетки надпочечника, выделяющие адреналин; клетки коры надпочечника, продуцирующие кортикостероиды) имеют слабо развитую эндоплазматическую сеть. При анализе этой возможности необходимо учитывать связь мембран эндоплазматической сети с рибосомами, участие которых в синтезе белка может считаться доказанным. Предполагают, что белок синтезируется в пограничной области между мембранами и поверхностью рибосом (Hendler, 1962).

Ряд наблюдений убеждает, что гранулярная эндоплазматическая сеть принимает участие в секреторном процессе и в синтезе протеолитических ферментов. Siekevitz и Palade (1958, 1959); Палад (1962); Сикевитц (1962) на ацинозных клетках поджелудочной железы морских свинок обнаружили, что стимуляция секреции (через 1—3 часа после кормления голодных животных) сопровождается изменениями эндоплазматической сети. Полости этой системы расширились, потерялась их правильная ориентация, а внутри цистерн были обнаружены небольшие плотные «интрацистернальные» гранулы (рис. 45), идентичные по строению гранулам зимогена, но меньшие по размерам (0,2—0,3 μ). Через 3 часа после кормления «интрацистернальные» гранулы исчезали из эндоплазматических канальцев. Параллельные биохимические исследования различных фракций гомогената железы голодных животных показали, что фракция зимогеновых гранул содержит около 40% трипсиногена и хемотрипсиногена клетки, тогда как микросомная фракция (основную массу ее составляют замкнутые пузырьки, образовавшиеся из фраг-



Рис. 45. Накопление «интрацистернальных» гранул (2) в полостях эндоплазматической сети (1) в клетках поджелудочной железы морской свинки. Увеличение $\times 30\,000$ (по Портеру, 1963).

ментов эндоплазматических мембран) бедна ферментами. После кормления, когда в цистернах эндоплазматической сети формируются «интрацистернальные» гранулы, ферментативная активность «микросом» приближается к активности зимогенной фракции. Эти наблюдения утверждают, что эндоплазматическая сеть участвует в синтезе пищеварительных ферментов. Последующий биохимический анализ различных субфракций «микросом», обработанных дезоксихолатом, позволил идентифицировать гранулы, расположенные в цистернах, с «презимогеновыми» гранулами. Приведенные данные были подтверждены последовательным включением меченых аминокислот в белки различных фракций гомогената железы. У накормленных животных через 3 минуты после введения l - C^{14} -лейцина наблюдалось повышение включения радиоактивной аминокислоты в рибонуклеопротеидные гранулы Паладе. Через 10 минут максимум включения был в эндоплазматической сети, содержащей интрацистернальные гранулы. Через 45 минут максимальное включение аминокислоты отмечалось уже во фракции зимогеновых гранул.

Наблюдения над последовательностью функциональной активности компонентов эндоплазматической сети, выполненные относительно грубым методом гомогенизации и фракционирования, были подтверждены электронномикроскопической автордиографией (Cago, Palade, 1961; Cago, 1961; Wellings, Philp, 1964). Cago и Palade обнаружили ту же последовательность включения H^3 - dl -лейцина в интактных клетках поджелудочной железы морской свинки при секреции. Через 4—5 минут после введения изотопа максимум включения определяли в гранулярной эндоплазматической сети, через 20 минут — в комплексе Гольджи, а через 4 часа — в зимогеновых гранулах. По данным Leblond и сотрудников (Wagshawsky, Leblond, Droz, 1963) (автордиография), часть белка, синтезированного в эндоплазматической сети клеток поджелудочной железы, остается на месте, а другая его часть транспортируется в зону Гольджи, где он в течение 11—12 минут превращается в зимогенные гранулы, которые через 36 минут выделяются из клетки. Близкие результаты были получены при электронномикроскопической автордиографии клеток в лактирующей молочной железе. На этом объекте H^3 - dl -лейцин также первоначально (через 10 минут) накапливался преимущественно в эндоплазматической сети, а через 30 минут обнаруживался в большем количестве в комплексе Гольджи (Wellings, Philp, 1964).

Таким образом, данные Palade, Siekevitz и сотрудников позволяют наметить следующие этапы в выработке секрета (белков, ферментов): 1) перенос аминокислот, поступающих в клетку, на рибонуклеопротеидные гранулы и синтез на

этих структурах белков или их предшественников (см. ниже); 2) перенос белков через мембраны эндоплазматических канальцев и формирование в просвете последних «интрацистернальных» гранул; 3) перемещение гранул (или их материала) через гладкую эндоплазматическую сеть в комплекс Гольджи, где происходят конденсация и упаковка зимогеновых гранул. Учитывая, что интрацистернальные гранулы остаются видимыми лишь в течение первых 3 часов после активации секреции, предполагают, что на пути к комплексу Гольджи они полностью растворяются и в зоне Гольджи из растворенных ферментов заново формируются зимогеновые гранулы.

Вероятно, подобные процессы происходят и в других секреторных клетках. Аналогичная последовательность изменений эндоплазматической сети в процессе секреции была прослежена Fawcett (1959, 1961) на клетках поджелудочной железы, на бокаловидных клетках и слизистых клетках желудка. В околоушной железе мышей после приема пищи наблюдали тождественные изменения эндоплазматической сети (Parks, 1962). Имеются также данные об участии эндоплазматической сети в образовании энтерохромаффинных гранул в клетках Кульчицкого либеркюновых крипт морской свинки (Wetzstein, Doerfler, Schwink, 1962). В клетках яйцевода курицы, синтезирующих альбумин, секрет был обнаружен в цистернах эндоплазматической сети (Handler, Dalton, Glenner, 1957). В эндоплазматических цистернах фолликулярного эпителия щитовидной железы во время секреции наблюдали накопление коллоида (Yamada, 1958). В фибробластах человека и в хондриобластах цыпленка при развитии коллагеновых фибрилл в просветах эндоплазматической сети обнаружено накопление мелкозернистого вещества, которое рассматривают как тропоколлаген. Позже это вещество конденсируется в тонкие нити, накапливающиеся вблизи плазматической мембраны и превращающиеся в коллагеновые волокна (Markey, 1961; Porter, 1964). В плазматических клетках лимфатических узлов и селезенки при образовании антител отмечают значительное развитие эндоплазматической сети, образование большого числа рибосом и превращение гладкой эндоплазматической сети в гранулярную. В интрацистернальных пространствах при этом откладывается мелкозернистое вещество (Policard, Collet, Martin, Prégemain, 1961; W. Merker, H. Merker, 1962; Fernando, Movat, 1962).

Итак, гранулярная эндоплазматическая сеть является одним из компонентов сложной внутриклеточной системы, принимающей участие в синтезе ферментов (белков) и, в частности, секреторного материала. Эта система была удачно

названа Хиршем (1963) внутриклеточным «конвейером» (рис. 46). Если в этом «конвейере» комплексу Гольджи отведена роль последнего «упаковочного цеха», то эндоплазматическая сеть выполняет функции производственного «химического цеха». Необходимо, однако, учитывать, что внутриклеточный «конвейер», даже связанный лишь с процессом секреции, включает не только эндоплазматическую сеть и комплекс Гольджи, но и другие компоненты клетки и прежде всего ядро (поступление информационной РНК, контроль за синтезом белка) и митохондрии (подача энергии — АТФ).

Возможно, что эндоплазматическая сеть принимает участие не только в синтезе секрета, но и в образовании других белковых продуктов синтетической деятельности клетки. Эти синтетические функции осуществляются гранулярной формой эндоплазматической сети. Что касается гладкой эндоплазматической сети, то ряд наблюдений позволяет предполагать, что она участвует в других метаболических процессах и прежде всего в синтезе, сегрегации и транспорте в клетке липидов и гликогена. Если гранулярная форма эндоплазматической сети сильно развита в клетках, продуцирующих белковые вещества, то ее гладкая разновидность достигает преимущественного развития в клетках, синтезирующих липиды (клетки сальных желез, кора надпочечника, интерстициальные клетки яичка) и углеводы. Изучение развития и дифференцирование жировых клеток крыс (Napolitano, 1963) показало, что накопление жира связано с эндоплазматической сетью. При экспериментах по всасыванию жира кишечным эпителием найдено, что эндоплазматическая сеть осуществляет не только перемещение этого материала, но и ресинтез жира из триглицеридов, который происходит на гладких эндоплазматических мембранах. Предполагается также участие гладкой эндоплазматической сети в синтезе и распаде гликогена (Porter, 1961). Наблюдения на клетках печени показали, что процессы накопления и распада гликогена связаны с деятельностью гладкой эндоплазматической сети. Во всяком случае при откармливании животных и накоплении в клетках гликогена наблюдается усиленное развитие этой структуры. Наоборот, в хрящевых клетках, уже утративших способность к синтезу гликогена, гладкая эндоплазматическая сеть развита слабо.

Развитие и восстановление. Происхождение и пути восстановления эндоплазматической сети остаются пока недостаточно изученными. Многие цитологи полагают, что эндоплазматическая сеть не только очень пластичная, но и весьма динамичная система, которая может обновляться за счет разных образований, имеющих мембранную структуру. Источником ее образования может служить клеточная обо-

Эргастоплазма

При голодании через 1 час после кормления синтез предшественников белков

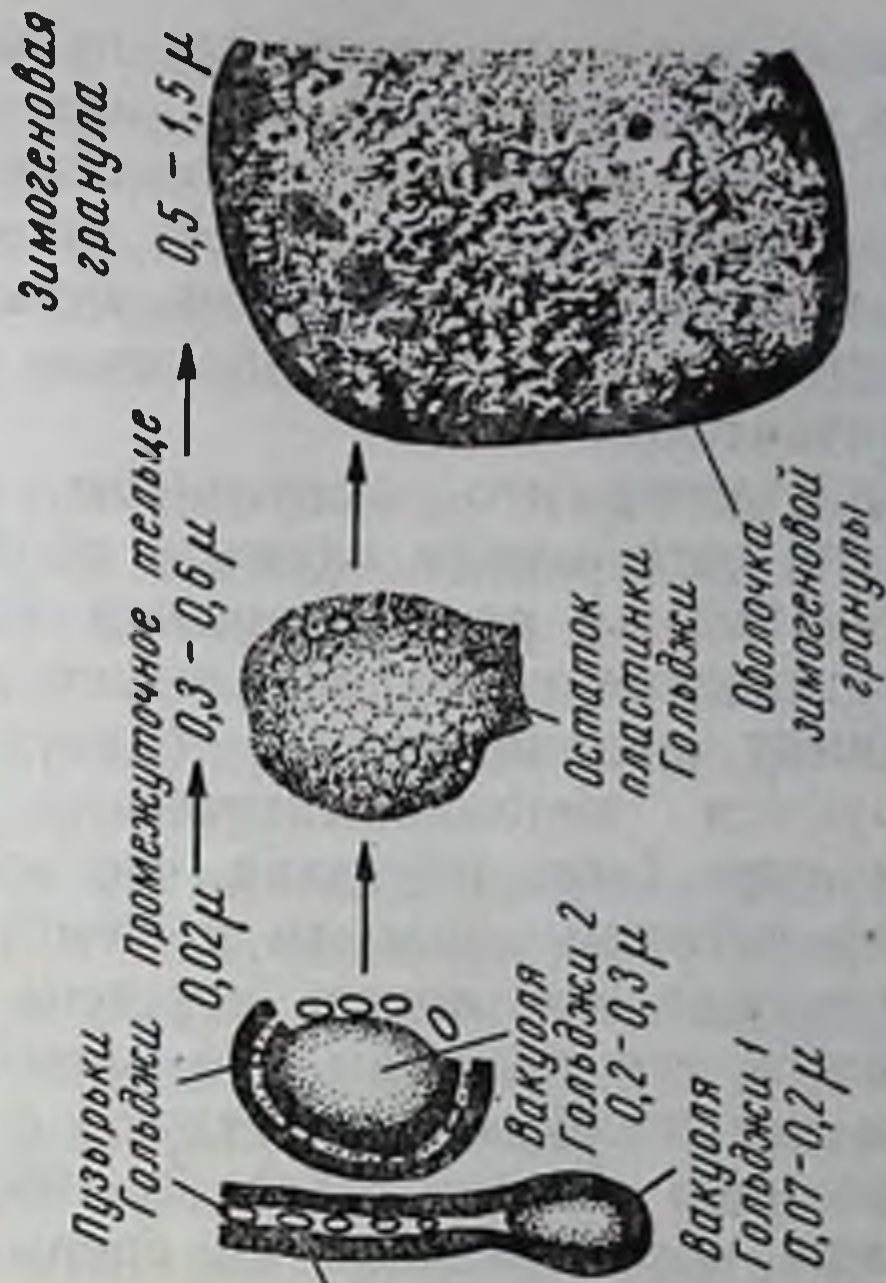
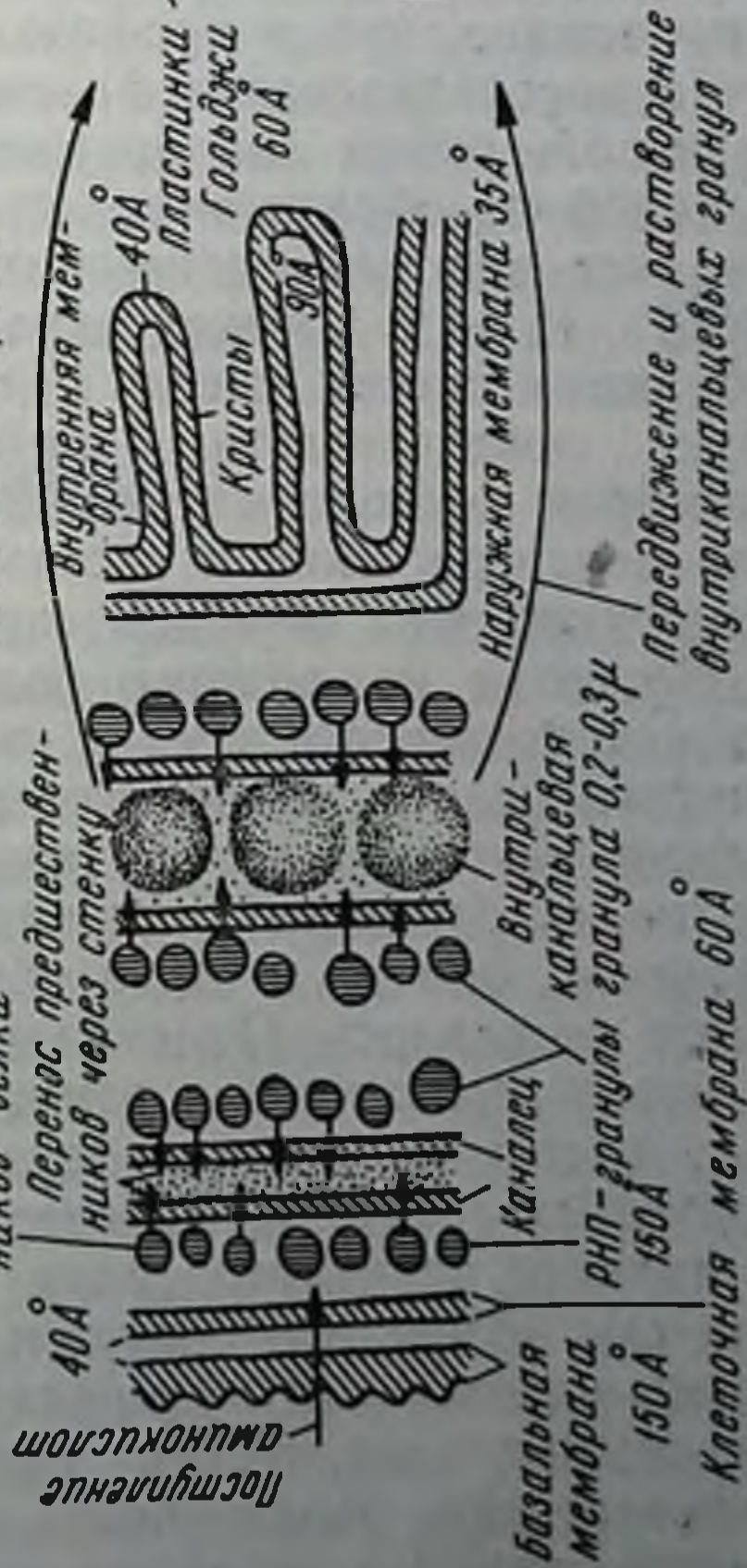


Рис. 46. Схема «конвейера», осуществляющего синтез ферментов в ацинозной клетке поджелудочной железы (по Хиршу, 1963).

лочка: ее дивертикулы и пиноцитозные пузырьки, сливаясь с мембранами эндоплазматической сети, могут пополнять эту систему. Вместе с тем мембраны эндоплазматической сети, мигрируя к поверхности клетки, могут иногда сливаться с клеточной оболочкой. Таким образом, можно представить себе «кругооборот» поверхностной оболочки клетки и мембран эндоплазматической сети.

Предполагают также, что источником восстановления эндоплазматической сети может служить оболочка ядра. По данным Buttrose (1963), в развивающемся эндосперме пшеницы эндоплазматическая сеть формируется из ядерной оболочки. Последняя выпячивается, образуя мешочки, из которых формируются эндоплазматические цистерны. На клетках корешка лука было показано, что во время митоза фрагменты старой ядерной оболочки и мембраны эндоплазматической сети прорастают внутрь веретена деления и затем перемещаются к его полюсам. Во время поздней анафазы и телофазы эти мембраны участвуют в формировании оболочки дочерних ядер (Porter, Machado, 1960). В электронномикроскопических исследованиях на сперматоцитах насекомых было прослежено, что в профазе — метафазе митоза ядерная оболочка расслаивается и фрагментируется, причем эти фрагменты используются для построения эндоплазматической сети. В телофазе образование ядерной оболочки осуществляется за счет эндоплазматических мембран (Вагер, Joseph, Meek, 1961). Идея о высокой динамичности и взаимопереходах мембранных систем клетки представляется заманчивой, но требует доказательств. Возможность взаимного превращения мембран эндоплазматической сети и митохондрий не получила подтверждения и в связи с различной биохимической спецификой этих мембран сомнительна.

Патология. Несмотря на важную роль эндоплазматической сети в жизнедеятельности клетки, патология этого органоида пока изучена слабо. Пояски специфических морфологических отличий раковой клетки давно заставили обратить внимание на особенности эндоплазматической сети в опухолевых клетках, однако и здесь обнаружить специфических изменений не удалось. Отмечалась лишь большая вариабельность этого компонента в раковой клетке. В большинстве раковых клеток наблюдали тенденцию к уменьшению степени развития эндоплазматической сети, которая в ряде случаев (клетки асцитного рака Эрлиха, асцитная саркома 37, гепатома Новикова, опухоль Брауна — Пирс) представлена лишь отдельными пузырьками. В других опухолях, наоборот, эндоплазматическая сеть развита очень сильно (карцинома печени, остеосаркома и миелома человека, гепатома мышей, аденома гипофиза крыс и др.).

Полагают, что чем сильнее дедифференцирована раковая клетка, тем более выражена в ней утрата мембран эндоплазматической сети. Для таких клеток, отличающихся повышенной базофилией цитоплазмы, характерна дезорганизация эндоплазматической сети с освобождением рибосом от мембран. Большое число рибосом свободно рассеяно по цитоплазме.

В ряде опухолевых клеток отмечали набухание и вакуолизацию мембран эндоплазматической сети. Эти изменения не специфичны, так как аналогичные явления наблюдали при воздействиях на клетку гипотонической среды, наркотиков, ионизирующего излучения и при интоксикациях (Bergström, Salmi, 1962; King, 1962).

С повреждением эндоплазматической сети связано развитие вакуольной дегенерации клеток (Takaki, Suzuki, Aizawa, 1962). При отравлении животных четыреххлористым углеродом и диэтиленгликолем этот процесс протекает таким образом, что первоначально мембраны эндоплазматической сети распадаются на мелкие пузырьки, заполненные аморфным веществом низкой электронной плотности. Эти пузырьки расширяются и превращаются в крупные вакуоли, которые занимают почти всю цитоплазму клетки.

При экспериментальном циррозе печени, вызванном α -нафтилизотиоцианатом, наблюдали деформацию цистерн эндоплазматической сети и превращение гранулярной эндоплазматической сети в гладкую (Steiner, Baglio, 1963).

Рибосомы

Рибосомы (гранулы Паладе, рибонуклеопротеидные гранулы), являющиеся одним из компонентов эндоплазматической сети, представляют собой плотные сферические гранулы размером 150—350 Å в диаметре. Рибосомы, связанные с мембранами гранулярной эндоплазматической сети, расположены на их наружной поверхности, где они локализируются либо беспорядочно, либо лежат линейно или в виде розеток и спиралей. В клетках корешка лука, например, рибосомы, прикрепленные к эндоплазматическим мембранам, расположены в виде спиралей, причем отдельные рибосомы связаны между собой мостиками. Отдельные спирали в этих клетках имеют протяженность в 250—300 μ (Falk, 1962). Рибосомы могут прикрепляться также к наружной мембране ядерной оболочки. Часто встречаются рибосомы, не связанные с мембранными структурами, свободно лежащие в цитоплазме. В клетках с хорошо развитой гранулярной эндоплазматической сетью гранулы большей частью связаны

с мембранами. В клетках со слабо развитой гранулярной эндоплазматической сетью (базальные клетки эпидермиса, плазматочиты селезенки и лимфатических узлов, клетки развивающегося книдобласта гидры, ооциты человека и др.) встречаются преимущественно свободные рибосомы. Имеются данные, согласно которым, система эндоплазматических канальцев и рибосом имеет разное происхождение в онтогенезе. В ацинозных клетках поджелудочной железы крысы (15—40 мм длины) в процессе эмбриогенеза первоначально возникают свободные рибонуклеопротеидные гранулы и лишь на более поздних стадиях развития образуются системы канальцев, с которыми вторично устанавливается связь рибосомы (Ferreira, 1959). В клетках печени крысы и в нейробластах цыпленка количество свободных рибосом также уменьшается в процессе развития (Oliver, Blumer, Witham, 1963; Eschner, Glees, 1963). Вместе с этим необходимо учитывать, что связь рибосом с мембранами имеет большое значение для функционирования этой системы. По данным Siekevitz и Palade (1959), свободные рибосомы менее активно включают C^{14} -лейцин, чем рибонуклеопротеидные гранулы, связанные с мембранами. Именно в таком комплексе рибосомы принимают наиболее активное участие в процессах синтеза белка.

Рибосомы описаны также в ядрах (Allfrey, Mirsky, 1961; Мирокий и Осава, 1963, и др.). Ядерные рибосомы (см. главу IX) отличаются от цитоплазматических рибосом физико-химическими и метаболическими особенностями (Wang, 1963), но также принимают участие в синтезе внутриядерных белков.

Рибосомы, выделенные из различных клеток растений, животных и микроорганизмов (табл. 8), характеризуются большим сходством химического состава, молекулярного веса и констант седиментации (Г. Вебстер, Уитман, 1962; Робертс, Бриттен, Мак Карти, 1964).

Таблица 8
Свойства рибосом разных клеток
(по Г. Вебстеру и С. Уитману, 1962)

Клетки	Константа седиментации в единицах Сведберга (S)	Молекулярный вес	Диаметр, Å	Химический состав, %	
				белок	РНК
Проростки гороха	80	$4 \cdot 10^6$	280	55	45
Белый клевер	80	—	—	46	54
Дрожжи	80	$4,1 \cdot 10^6$	240	58	42
Печень крысы	78	—	170	60	40
Ретикулоциты кролика	78	$4,1 \cdot 10^6$	340	50	50
Кишечная палочка	70	$2,8 \cdot 10^6$	200	41	59

Рибосомы содержат почти равное количество РНК и белка. В них обнаружены лишь следы липидов, значение которых пока не ясно. В состав рибосом входит также рибонуклеаза в неактивном состоянии (McQuillen, 1962, и др.). Имеются данные о содержании в рибосомах и некоторых других ферментов: латентной дезоксирибонуклеазы, активной лейцинаминопептидазы, β -галактозидазы (следы), а также кислой и щелочной фосфатаз. Рибосомы содержат много магния и значительно меньше кальция. В рибосомах гороха, например, содержится около 0,31 моля Mg на 1 г рибосомальной РНК. Несмотря на большую электронную плотность, рибосомы обладают высокой степенью гидратации. В рибосомах ретикулоцитов содержится около 2,6 г воды на 1 г сухого веса.

Рибосомальная РНК составляет 80—90% всей РНК клетки. Она состоит из очень небольшого числа крупных молекул. Так, каждая рибосома печени теленка содержит, по видимому, всего две молекулы РНК с молекулярным весом $1,3 \cdot 10^6$ и $0,6 \cdot 10^6$. Рибосомальная РНК по сравнению с информационной РНК более инертна и обновляется менее энергично. Белок рибосом различных клеток сходен по аминокислотному составу. Он содержит много основных аминокислот, ведет себя как белки щелочного характера и близок к нуклеогистонам. Рибосомы состоят, таким образом, из большого числа белковых комплексов, обладающих щелочными свойствами и низким молекулярным весом, и 2—3 молекул высокополимерной РНК (Г. Вебстер, С. Уитман, 1962). Входящие в состав рибосом белки и РНК соединяются между собой водородными связями при помощи ионов (McQuillen, 1962).

При кажущейся простоте и однородности структуры рибосомы состоят из более мелких субъединиц (Tissières, Watson, 1958; Г. Вебстер, С. Уитман, 1962, и др.). Рибосомы распадаются на более мелкие субъединицы при снижении в среде концентрации двухвалентных катионов (Mg, Ca, Co, Mn). Этот процесс обратим: при увеличении концентрации двухвалентных катионов субъединицы соединяются, образуя нативные рибосомы. Рибосомы разных клеток состоят из субъединиц различного размера (табл. 9).

Наиболее детально изучены рибосомы кишечной палочки. Электронномикроскопические исследования (Г. Хаксли, Дж. Зубей, 1959) показали, что рибосомы с константой седиментации 70 S имеют диаметр 140—180 Å и состоят из двух субъединиц (50 S и 30 S). Большая из них несколько уплощена со стороны контакта с меньшей субъединицей. Последняя в месте стыка несколько вогнута. Между субъединицами видно щелевидное пространство. Изолированная

субъединица 50 S имеет поперечник, равный 140—160 Å, и приблизительный объем $1,95 \cdot 10^6 \text{ Å}^3$. Изолированная субъединица 30 S имеет форму неправильного треугольника, трапеции или многоугольника. Ее поперечник равен 150—180 Å. Складываясь между собой поперечными сторонами, субъединицы образуют целую рибосому соответствующего размера.

Таблица 9
Субъединицы рибосом
(по Г. Вебстеру и С. Уитману)

Клетки	Константы седиментации в единицах Сведберга (S)	
	рибосомы	субъединицы
Проростки гороха	80	60 и 40
Зародыши пшеницы	70	50 и 30
Дрожжи	80	60 и 40
Ретикулоциты кролика	78	60 и 40
Кишечная палочка	70	50 и 30

Каждая субъединица содержит по одной высокополимерной молекуле РНК (А. С. Спирин, 1963). Субъединица 50 S содержит более крупную молекулу (молекулярный вес $1,12 \cdot 10^6$), а субъединица 30 S соответственно меньшую молекулу РНК (молекулярный вес $0,56 \cdot 10^6$). Нативные 50 S рибосомы, самостоятельно присутствующие в клетке и не являющиеся субъединицами, содержат по 2 малые молекулы (молекулярный вес каждой $0,56 \cdot 10^6$). Биохимические и электронномикроскопические исследования показали, что каждая рибосомная субъединица построена из свернутого тяжа РНК. Тяж рибосомальной РНК имеет спиральные участки, расположенные перпендикулярно основной цепи. Такой молекулярный тяж плотно упакован в рибосоме, причем между впадинами спирали и между целыми спиральными участками расположен рибосомальный белок, цементирующий всю конструкцию в компактную структуру рибосомы (А. С. Спирин, 1963; А. С. Спирин и др., 1963). При высоких разрешениях электронного микроскопа в нативных рибосомах удается выявить такую молекулярную структуру рибонуклеопротеидных гранул (А. Ф. Быковский, 1963).

Дезагрегация рибосом на субъединицы приводит к изменениям свойств рибонуклеопротеидных гранул. Они становятся более чувствительными к рибонуклеазе и, вероятно, не способны катализировать включение аминокислот в белки (Tissières, Schlessinger, Gros, 1960).

Интерес к рибосомам, который не ослабевает на протяжении двух последних десятилетий, обусловлен их исключительной ролью в клетке. Они являются компонентом клетки, с которым связан синтез клеточных белков (табл. 10). Функция рибосом заключается в том, что на них происходит конденсация активированных аминокислот и укладка их в полипептидную цепь в соответствии с генетической информацией, переданной из ядра через информационную РНК (m-РНК).

Таблица 10
Клеточные компоненты, участвующие в белковом синтезе (по А. Рич, 1964)

Компонент	Структура	Функция	Величина
ДНК	Полимерная двухспиральная молекула из многих тысяч субъединиц	Генетическая информация, закодированная в последовательности оснований	Диаметр: 20 А Длина: от нескольких тысяч ангстрем до нескольких миллиметров
Информационная РНК (m-РНК)	Полимерная одноцепочечная молекула из сотен субъединиц	Транскрибирует с ДНК информацию и несет ее к месту синтеза белка	Диаметр: 10—15 А Длина: от 1 А до нескольких тысяч ангстрем
Транспортная РНК (растворимая РНК, s-РНК)	Полимерная одноцепочечная молекула примерно из 70 субъединиц. Некоторые участки могут закручиваться в двойную спираль	Приносит специфические аминокислоты к месту белкового синтеза. Каждая аминокислота имеет свою s-РНК	Длина развернутой молекулы 260 А
Рибосома	Глобулярная структура, состоящая из рибосомальной РНК и белка	Взаимодействует с s-РНК, укладывая аминокислоты в полипептидную цепь	Диаметр 150—350 А
Полирибосомы	Рибосомы, связанные m-РНК	Синтез белка	Длина: варьирует в зависимости от длины m-РНК. Состоит из 5—70 рибосом

Синтез ряда белков удалось получить на изолированных рибосомах (Schweet, Lamfrom, Allen, 1958; Webster, 1959, и др.). Было также показано включение меченых аминокислот в рибосомы (Littlefield, Keller, Zamesnik, 1955; Korner, 1961; Osawa, Takamami, 1961; Lengley, Speyer, Basilis, Ochoa,

1962. и др.). Первое время полагали, что роль матрицы, которая определяет последовательность расположения комплекса аминокислота — транспортная РНК, играет рибосомальная РНК (r-РНК). Однако дальнейшие исследования (С. Бреннер, 1964) показали, что рибосомальная РНК играет какую-то другую, пока неясную, роль в синтезе белка. Роль матрицы выполняет информационная РНК, которая включается в рибосомы и на их поверхности происходит взаимодействие между комплексом аминокислота — s-РНК — с комплементарной нуклеотидной последовательностью m-РНК. Информационная РНК функционирует на рибосоме только однократно и после синтеза одной полипептидной цепи разрушается, а вновь синтезированный белок накапливается в рибосомах. В бактериальной клетке, имеющей период генерации, равный 90 минутам, скорость «кругооборота» m-РНК достигает 4—6 секунд.

Поведение рибосом малоспецифично: с ними может связаться чужая клетка m-РНК. Так, при вирусной инфекции с рибосомами связывается информационная РНК, образовавшаяся на ДНК вируса, и этим путем осуществляется синтез вирусного белка. Но в то же время рибосомы ведут себя в процессах синтеза белка не просто как химическое соединение, а как специализированные структуры. В этом убеждают данные о значении для процессов синтеза связи между рибосомами и эндоплазматическими мембранами и сведения о роли в этих реакциях свободных рибонуклеопротеидов. Эксперименты с мечеными предшественниками белка показали, что свободные рибонуклеопротеиды, выделенные из микросомной фракции после обработки дезоксихолатом и ультрацентрифугирования интенсивно включают C^{14} -аденин, а C^{14} -лейцин включают лишь незначительно (Siekevitz, Palade, 1959). Свободные рибонуклеопротеиды принимают, вероятно, активное участие в обновлении РНК, но не играют большой роли в синтезе белка.

В процессе синтеза белка активны не все рибосомы. По данным ряда авторов (Tissières, Schlessinger, Gros, 1960; Wettstein, Stachelin, Noll, 1963, и др.), в синтезе белка участвуют только тяжелые — «активные» рибосомы. Они отличаются тем, что после снижения концентрации магния не распадаются на субъединицы. Не все активные рибосомы функционируют одновременно. В процессе синтеза белка участвует лишь около 10% «активных» рибосом одновременно. Ритмика «работа — отдых», свойственная и ультраструктурам, обеспечивает длительный период их функциональной работоспособности. Активные рибосомы после присоединения к ним m-РНК становятся тяжелее и скорее седиментируют, чем свободные неактивные рибосомы той же категории. Эти

данные еще раз подчеркивают значение морфологической организации рибосом в их химической деятельности. В чем выражается эта организация и биологические различия между активными и не работающими рибосомами, остается неясным.

По данным Rich и сотрудников (1963), Slayter, Warner, Rich, Hall (1963), A. Рич (1964), синтез белка осуществляется не столько одиночными рибосомами, сколько целой системой их — «полирибосомами». Последние состоят из 5—70 рибосом, связанных между собой тонкими нитями диаметром около 10—15 Å и расположенными на расстоянии 50—150 Å друг от друга. Предполагают, что эти нити образованы молекулами *m*-РНК. Rich допускает, что в процессе синтеза белка в системе полирибосом отдельные рибосомы движутся по пронизывающей их нити информационной РНК, «считывая» заложенную в ней информацию, и соответствующим образом укладывают аминокислоты. Рибосома, завершившая образование полипептидной цепи, освобождает ее, а сама сходит с цепи *m*-РНК. При синтезе гемоглобина в ретикулоцитах этот цикл движения рибосом в системе занимает около минуты.

При экспериментальных условиях наблюдается изменение числа рибосом в клетке. Так, например, в ацинозных клетках поджелудочной железы через 1 час после кормления и в плазматических клетках при образовании антител наблюдали увеличение числа рибонуклеопротеидных гранул. Так как в этих условиях не удавалось обнаружить перешнуровки (деления) рибосом, то полагают, что может происходить новообразование этих структур. Биохимические исследования на кишечной палочке позволяют предполагать, что синтез рибосом осуществляется через три этапа (Р. Б. Робертс, Р. И. Бриттен, Б. И. Мак Карти, 1964). На первых из этих этапов образуются две промежуточные частицы-предшественники: «эосомы» (пик седиментации 14 S), состоящие только из РНК, и «неосомы» (пик седиментации 30 S), содержащие менее 50% рибосомального белка. Присоединяя белок, «неосомы» превращаются в зрелые рибосомы.

Место образования рибосом остается дискуссионным. Допускают три возможности: 1) образование рибосом происходит в цитоплазме за счет цитоплазматических рибонуклеопротеидов, аминокислот и ферментов; 2) синтез рибосом происходит в ядре (или ядрышке) и в готовом виде РНП-частицы поступают в цитоплазму; эта точка зрения особенно распространена в последние годы, хотя по-прежнему не преодолено основное затруднение — химические и биологические различия ядерных и цитоплазматических рибосом; 3) наконец, заслуживают внимания представления о взаимо-

действии в процессе образования рибосом цитоплазмы (цитоплазматическая РНК, аминокислоты, ферменты, энергия) и ядра (выход ядерной РНК, контроль ДНК за синтезом РНП-частиц).

Патология рибосом изучена слабо.

Учитывая значение эндоплазматической сети и рибосом в синтезе белков, можно было бы предполагать участие этих структур в развитии белковых дистрофий. К сожалению, сведения в этой области еще очень ограничены. Известно, что при экспериментальном нарушении белкового обмена, вызванного заменой в диете фенилаланина его аналогом, в ацинозных клетках поджелудочной железы происходит локальная миелинизация мембран с последующим разрушением эндоплазматической сети и рибосом (Higban, Swift, Wissler, 1962).

Большой интерес представляют изменения рибосом при серповидноклеточной анемии (талассемии) — заболевании, связанном с образованием аномального гемоглобина S, в котором произошло замещение одного остатка глутаминовой кислоты валином. У больных талассемией при сохранении общего числа рибосом, участвующих в синтезе белков, была обнаружена избирательная утрата ими способность включать C^{14} -лейцин (Bugka, Marks, 1963).

В инфицированных клетках рибосомы подвергаются разрушению. В культуре клеток HeLa при заражении вирусом полиомиелита число полирибосом резко уменьшается. Но уже через полчаса после инфицирования культуры возникают рибосомы нового типа, которые синтезируют вирусный белок. Предполагают, что вместо клеточной РНК остовом полирибосом стала вирусная РНК.

ЛИТЕРАТУРА

- Бреннер С. РНК, рибосомы и белковый синтез. В кн.: Регуляторные механизмы клетки. ИЛ, 1963, стр. 9—68.
- Бреннер С. РНК, рибосомы и белковый синтез. В кн.: Регуляторные механизмы клетки. «Мир», 1964, стр. 150—163.
- Вебстер Г., Уитман С. Структура и функция рибосом. В кн.: Труды V международного биохимического конгресса. II симпозиум. М., 1962, стр. 34.
- Дальтон А. Аппарат Гольджи и секреторные гранулы. В кн.: Функциональная морфология клетки. ИЛ, 1963, стр. 159—166.
- Мирский А. и Осава С. Интерфазное ядро. В кн.: Функциональная морфология клетки. ИЛ, 1963, стр. 9—68.
- Палад Дж. Функциональные изменения структуры компонентов клетки. В кн.: Структурные компоненты клетки. ИЛ, 1962, стр. 58—77.
- Портер К. Основное вещество цитоплазмы по данным электронной микроскопии. В кн.: Функциональная морфология клетки. ИЛ, 1963, стр. 86—112.

- Робертс Р. Б., Бриттен Р. И., Мак Карти Б. И. Изучение кинетики и синтеза РНК и рибосом. В кн.: Молекулярная генетика. «Мир», 1964, стр. 319—384.
- Рич А. Полирибосомы. В кн.: Структура и функции клетки. «Мир», 1964, стр. 197—215.
- Сикевитц Ф. О значении внутриклеточных структур для регуляции обмена. В кн.: Регуляция клеточного обмена. ИЛ, 1962, стр. 27—64.
- Спирин А. С. Некоторые проблемы макромолекулярной структуры рибонуклеиновых кислот. М., 1963.
- Спирин А. С., Киселев Н. А., Шакулов Р. С., Богданова А. А. Биохимия, 1963, 28, 5, 320.
- Хаксли Г., Зубей Дж. Электронномикроскопическое исследование структуры микросомных частиц кишечной палочки. В кн.: Структурные компоненты клетки. ИЛ, 1962, стр. 264—273.
- Хирш Г. О принципе «конвейера» в выработке ферментов. В кн.: Функциональная морфология клетки. ИЛ, 1963, стр. 167—184.
- Шёстранд Ф. Ультраструктура клеток, наблюдаемая в электронном микроскопе. В кн.: Вопросы электронной микроскопии тканей. ИЛ, 1959, стр. 9—66.
- Allfrey V. G., Mirsky A. E. Amino acid transport into the cell nucleus and reactions governing nuclear protein synthesis. В кн.: Protein Biosynthesis. London—New York. Acad. Press, 1961, p. 49—80.
- Bager R., Joseph S., Muk G. Membrane interrelationship during meiosis. Electron microscopy anatomy. London, Edward Arnold, 1961, p. 160—175.
- Bergström R. M., Salmi A. Exp. Cell. Res., 1962, 26, 1, 226—228.
- Bernhard W. Exp. Cell Res., 1959, suppl. 6, 17—50.
- Bernhard W., Rouiller C. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1956, Suppl. 2, 73—77.
- Burka E. R., Marks A. Nature, 1963, 199, 4894, 706—707.
- Buvat R. Ber. Dtsch. bot. Ges., 1961, 74, 7, 261—267.
- Buttrose M. S. Austral. J. Biol. Sci., 1963, 13, 2, 305—317.
- Caro L. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1961, 10, 1, 37—45.
- Caro L. G., Palade G. E. Compt. rend. Soc. biol., 1961, 155, 9, 1750—1762.
- Emmelot P., Bos C. J. Biochem., Biophys. Acta, 1962, 58, 2, 374—375.
- Eschner J., Glees P. Experientia, 1963, 19, 301—303.
- Essner E., Novikoff A. J. Cell. Biol., 1962, 15, 2, 292—314.
- Falk H. Protoplasma, 1962, 54, 4, 594—597.
- Fawcett D. W. Changes in the fine structure of the cytoplasmic organelles during differentiation. В кн.: Developmental Cytology. Ed. Rudwk. New York, Ronald press, 1959.
- Fawcett D. W. The membranes of the cytoplasm. Lab. Invest., 1961, 10, 1162—1188.
- Ferreira J. D. Diferenciacao do chondrioma, aparelho de Golgi e ergastoplasma. Fac. de Med. Lissabon, 1959.
- Fernando N. V., Movat H. Z. Maturation of plasma cells after antigenic stimulation. В кн.: Electron Microscopy. 2. New York—London Acad. Press, 1962, TP-10.
- Gaudecker B. Zellforsch., 1963, 61, 1, 56—95.
- Hendler R. W. Nature, 1962, 193, 4818, 821—823.
- Hruban, Swift H., Wissler K. W. J. Ultrastruct. Res., 1962, 7, 3—4, 273—285.
- Ishizaki H. Exp. Cell. Res., 1963, 31, 3, 606—608.
- Jandecker B. Ztschr. Zellforsch., 1963, 61, 1, 56—95.
- King D. W. Federat. Proc., 1962, 21, 6, 1143—1146.
- Korner A. Biochem. J., 1961, 81, 1, 168—179.

- Lengley P., Speyer J. F., Basilis C., Ochoa S. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1962, 48, 2, 282—284.
- Marker H. J. *Laugenbecks Arch., Dtsch. Ztschr. Chirurg.*, 1961, 297, 5, 411—423.
- McQuillen K. *Progr. Biophys., Biophys. Chem.* V. 12, Oxford — London — New York — Paris, Pergamon Press, 1962, p. 67—106.
- Merker W., Merker H. *Beitr. Silikos-Forsch.*, 1962, 75, 25—58.
- Napolitano L. J. *Cell. Biol.*, 1963, 18, 3, 663—679.
- Novikoff A. B., Heus M. J. *Biol. Chem.*, 1963, 238, 2, 710—716.
- Oliver I. T., Blumer W. F. C., Witham I. J. *Compar. Biochem., Physiol.*, 1963, 10, 1, 33—38.
- Osawa S., Takanami M. *Progr. Theoret. Phys.*, 1961, 17, 108—123.
- Palade G. E. J. *Biophys. Biochem. Cytol.*, 1955, 1, 59—69.
- Palade G. E. J. *Biophys. Biochem. Cytol.*, 1956, 2 suppl., 4, 85—98.
- Palade G. E., Porter K. R. *Anat. Rec.*, 1952, 112, 370.
- Palade G. E., Porter K. R. *J. exp. Med.*, 1954, 100, 641.
- Palade G. E., Siekevitz P. *Federal. Proc.*, 1955, 14, 262.
- Palay S. L. *Frontiers in Cytology*. Yale Univ. Press New Haven, Connecticut, 1958, 305—342.
- Palay S. L., Palade G. E. J. *Biophys. Biochem. Cytol.*, 1955, 1, 69—88.
- Palay S. L., Karlin L. Z. J. *Biophys. Biochem. Cytol.*, 1959, 5, 363—384.
- Parks H. F. J. *Cell Biol.*, 1962, 14, 2, 221—234.
- Policard A., Collet A., Martin J. Ch., Prégermain S. *Compt. rend. acad. sci.*, 1961, 253, 19, 2027—2029.
- Porter K. R. The endoplasmic reticulum: some current interpretations of its forms and functions. В кн.: *Biol. Structure and Function*. V I. London — New York. Acad. Press, 1961, p. 127—155.
- Porter K. *Biophys. J.*, 1964, 4, 1, Part 2, 167—201.
- Porter K. R., Claude A. F., Fullman E. F. *J. exp. Med.*, 1945, 81, 233.
- Porter K. R., Machado R. J. *Biophys., Biochem. Cytol.*, 1960, 7, 167.
- Rendi K. *Exp. Cell. Res.*, 1959, 17, 3, 585—587.
- Rich A. *Scient. Am.*, 1963, 209, 6, 44—53.
- Rosenbluth J. J. *Cell. Biol.*, 1962, 13, 3, 405—421.
- Schmidt W. *Zeitschr. Zellforsch.*, 1961, 54, 6, 803—806.
- Schweet R., Lamfrom H., Allen E. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1958, 44, 1029.
- Slautterback D. B., Fawcett D. W. J. *Biophys. Biochem. Cytol.*, 1959, 5, 441—450.
- Siekevitz P., Palade G. E. J. *Biophys., Biochem. Cytol.*, 1959, 5, 1.
- Siekevitz P., Palade G. E. J. *Biophys., Biochem. Cytol.*, 1958, 4, 309.
- Slyter H. S., Warner J. R., Rich A., Hall C. E. J. *Molec. Biol.*, 1963, 7, 6, 652—657.
- Spahr P. F., Hollmgworth R. B. *Federat. Proc.*, 1960, 19, 318.
- Steiner J. W., Baglio C. M. *Lab. Invest.*, 1963, 12, 8, 765—790.
- Takaki F., Suzuki T., Aizawa S. Electron microscopic studies vacuolar degeneration. В кн.: *Electron Microscopy*, v. 2. New York — London. Acad. Press, 1962, VV. 10.
- Tissières A., Watson J. D. *Nature*, 1958, 182, 778.
- Tissières A., Schlessinger D., Gros F. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1960, 46, 1450—1463.
- Wang T. Y. *Exp. Cell. Res.*, 1963, suppl. 9, 213—219.
- Warshawsky H., Leblond C. P., Droz B. J. *Cell. Biol.*, 1963, 1, 1—23.
- Wellings S. R., Philp L. *Ztschr. Zellforsch.*, 1964, 61, 6, 871—882.
- Wettstein F. O., Stachelin T., Noll H. *Nature*, 1963, 197, 4866, 430—435.
- Welzstein R., Doerfler W., Schwink A. *Protoplasma*, 1962, 55, 2, 303—312.

VI

ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ ЧАСТИЦЫ

Успехи изучения химических особенностей цитоплазмы клетки тесно связаны с выяснением биохимической характеристики цитоплазматических гранул—микросом и лизосом. Несмотря на то что эти образования характеризуются преимущественно биохимически, данные о них (во всяком случае о микросомах) служат важным источником наших сведений о химизме и деятельности некоторых клеточных органоидов (эндоплазматической сети и рибосом).

«Микросомы»

«Микросомы» были обнаружены почти одновременно в нескольких лабораториях (А. Claude, 1938; К. Stern, 1939; Bensley, 1943; Brachet, Jeener, 1944). При фракционном центрифугировании гомогенатов клеток, помимо известных фракций (ядра, митохондрии, надосадочная жидкость), была выделена новая — микросомная фракция, отличавшаяся высоким содержанием РНК. Метод выделения заключался в повторном центрифугировании при возрастающих ускоре-

ниях оставшейся надосадочной жидкости после отделения каждой фракции.

Микросомная фракция была выделена из различных органов млекопитающих животных (печень, поджелудочная железа, мозг, селезенка, почка и др.), из клеток насекомых и растений, из дрожжей. Изучение элементарного химического состава фракции показало, что он постоянен для каждого органа даже у животных разного вида. В то же время микросомная фракция различных органов даже у одного индивидуума имела разный химический состав.

В темном поле зрения в растворенном осадке микросомной фракции были обнаружены светящиеся частицы. Эти наблюдения привели к представлению, что в состав фракции входят «субмикроскопические частицы», или «микросомы» (Claude, 1938), которые имеют шаровидную форму и по своим размерам (50—300 м μ) стоят на грани видимости в световом микроскопе.

Электронная микроскопия осадка микросомной фракции печени и поджелудочной железы показала, что она состоит из фрагментов мембран и пузырьков, содержащих на своей поверхности мелкие гранулы, идентичные рибосомам (Slauterback, 1953; Palade, Siekevitz, 1956; Kuff, Hogeboom, Dalton, 1956, и др.). На срезах интактных клеток печени, подвергнутой ультрацентрифугированию, электронномикроскопически было обнаружено, что микросомная зона в целой клетке соответствует эргастоплазме, смещенной под влиянием центробежной силы (Bernhard, Gautier, Rouiller, 1954). Эти данные убеждают, что микросомы являются искусственными образованиями и как самостоятельные структуры не существуют. Микросомная фракция образована фрагментами эндоплазматической сети с рибосомами и, вероятно, фрагментами мембран аппарата Гольджи, митохондрий и клеточной оболочки. Таким образом, правильнее говорить не о «микросомах», а именно о микросомной фракции, вкладывая в это понятие только биохимическое содержание, а не представление о структурном компоненте клетки. Вместе с тем необходимо учитывать, что анализ микросомной фракции дает многое для изучения химизма клеточных структур, из которых образуются «микросомы».

Химический состав микросомной фракции характеризуется высоким содержанием нуклеопротеидов и липидов (см. обзоры Schneider, Hogeboom, 1951; Р. А. Хесин, 1951; Д. Хогбум, В. Шнейдер, 1957, О. Линдберг и Л. Эрнстер, 1957). В микросомной фракции печени содержится около 50% всей РНК клетки, причем ее концентрация достигает 63 г фосфора РНК на 1 мг азота. Концентрация РНК в микросомной фракции почки меньшая, хотя также довольно велика.

Общее содержание липидов микросомной фракции составляет около 43% ее сухого веса, что равно приблизительно 21% общего количества липидов цитоплазмы. Это преимущественно фосфатиды, количество которых во фракции составляет 65% всех фосфатидов цитоплазмы.

Первыми исследователями «микросом» было описано (Б. В. Кедровский, 1948) в этих образованиях большое количество разнообразных ферментов (почти все дыхательные ферменты, различные гидролазы), количество и набор которых позволяли рассматривать «микросомы» как маленькие химические лаборатории клетки, ответственные за дыхание и синтез белков в цитоплазме. Эти старые данные большей частью не были подтверждены.

По мере совершенствования методики выделения и очистки микросомной фракции содержание в ней различных энзимов все больше ограничивалось. Было установлено, что микросомная фракция содержит лишь одиночные ферменты цепи переноса электронов. Как будет показано дальше, компоненты микросомной фракции играют важную роль в процессах синтеза белка. Siekevitz (1952) показал, что включение C^{14} -аланина в микросомную фракцию печени происходит только в том случае, если в состав фракции включены митохондрии. Микросомная фракция содержит энзимы, которые могут обеспечить синтез белка, но для осуществления этого процесса необходим внешний источник энергии, которым служат митохондрии. В составе микросомной фракции были обнаружены НАД · H_2 -цитохром-с-редуктаза (Hogeboom, 1949), НАДФ · H_2 -цитохром-с-редуктаза (Hogeboom, Schneider, 1950), а также аденозинтрифосфатаза. Наличие этих ферментов и присутствие во фракции инозина (гипоксантин-нуклеозид) позволяют предполагать, что компоненты микросомной фракции связаны с обменом нуклеотидов и синтезом РНК (Ж. Браше, 1960).

Имеются данные о содержании в микросомной фракции эстеразы (холинэстеразы, эстеразы витамина А), глюкозо-6-фосфатазы и щелочной фосфатазы (Hers et al., 1951).

Новым этапом в изучении химического состава микросомной фракции послужило дальнейшее разделение ее на субфракции, содержащие отдельные компоненты исходной фракции. С этой целью микросомную фракцию обрабатывали раствором дезоксихолата натрия, который растворяет мембранные структуры. После их отделения остается только чистая фракция рибонуклеопротеидных частиц. Эти частицы (рибосомы) содержат почти 50% РНК, и включение в них меченых аминокислот происходит значительно энергичнее, чем во всю микросомную фракцию (Siekevitz, Palade, 1959). Нуклеопротеидные частицы оказались биохимически не

однородными. Более легкие из них (осаждаются часовым центрифугированием при 105 000 g) состоят из нуклеопротеида и отличаются высоким содержанием РНК. Судя по интенсивности включения 8-С¹⁴-аденина, РНК их обновляется менее интенсивно, но они энергично участвуют в синтезе белка (включение С¹⁴-лейцина). Наиболее активно включают меченые аминокислоты рибонуклеопротеидные частицы, еще сохранившие связь с фрагментами мембран. Более тяжелые частицы (осаждение трехчасовым центрифугированием при 105 000 g) относительно менее богаты РНК, интенсивнее ее обновляют, но меньше участвуют в синтезе белка.

Из надосадочной жидкости при снижении в ней концентрации детергента (разведение раствором сахарозы) удалось частично восстановить растворенные мембраны и при дальнейшем центрифугировании их осадить. Биохимический анализ этих искусственно выделенных мембранных образований (см. Ф. Сикевитц, 1962) показал, что ферменты НАД · Н₂-цитохром-с-редуктаза, НАДФ · Н₂-цитохром-с-редуктаза и глюкозо-6-фосфатаза связаны с мембранами, тогда как РНК — с нуклеопротеидными частицами микросомной фракции. В мембранах микросомной фракции из поджелудочной железы (в отличие от печени) не наблюдалось увеличения фосфолипидов сравнительно с остальной фракцией. В связи с этим Siekevitz полагает, что в отличие от митохондриальных мембран, образованных фосфолипидами, мембраны микросомной фракции (во всяком случае поджелудочной железы) имеют белковую природу. Судя по химическому составу «мембранной фракции», автор считает, что мембраны, изолированные из микросомной фракции, происходят из эндоплазматической сети. Поэтому никотинамидадениндинуклеотиды и глюкозо-6-фосфатазу он относит к мембранам эндоплазматической сети. Учитывая смешанный характер мембранных структур микросомной фракции, нельзя пока безоговорочно исключить, что эти ферменты имеют митохондриальное происхождение. Во всяком случае представляется очевидным, что по мере усовершенствования метода выделения и очистки изолированных компонентов микросомной фракции мы получим возможность судить о их химическом составе.

Что касается физиологической роли отдельных компонентов микросомной фракции, то данный вопрос частично уже рассмотрен выше (см. главу V). Здесь лишь напомним, что рибосомы принимают участие в процессах синтеза белка. В этом, в частности, убеждают многочисленные эксперименты с введением меченых аминокислот. Так, эксперименты с С¹⁴-лейцином, С¹⁴-валином, N¹⁵-глицином и др. показали,

что наиболее быстро и интенсивно аминокислоты включаются в микросомную фракцию (Borsook, Deasy, Haagen-Smit, Keighley, Lowy, Brachet, 1950; Hultin, 1950; Keller, 1951, и др.). Приведенные данные хорошо согласуются с результатами опытов, в которых изучали места образования в клетке антител (Ф. Гуровитц, Ч. Крэмpton, 1955). После введения антигена (меченый йодированный яичный альбумин) было обнаружено, что он быстро накапливается в микросомной фракции и уже через 2—3 минуты после инъекции почти 50% антигена, отложенного в печени и селезенке, содержится в этой фракции.

Лизосомы

Лизосомы — гипотетические цитоплазматические частицы, существование которых доказывается преимущественно биохимическими методами. Попытки морфологически обнаружить эти образования пока дают разнородные и мало надежные результаты. Сведения о лизосомах основываются больше на опытах с фракционным центрифугированием гомогенатов, чем на прочных визуальных данных.

Точка зрения о существовании «нового органоида» клетки (Де Дюв, 1962; Scheib, 1962; Massieu, 1962; De Duve, 1963; А. Новиков, 1963) основана на трех биохимических фактах.

1. При изучении различных фракций гомогената клетки было обнаружено, что при небольшой центробежной силе активность кислой фосфатазы и некоторых других кислых гидролаз обнаруживается во фракции микросом, а при больших ускорениях те же ферменты выявляются в митохондриальной фракции.

2. Кислые гидролазы (кислая фосфатаза, кислая рибонуклеаза, кислая дезоксирибонуклеаза, катепсин, β -глюкуронидаза, арилсульфатаза) выделяются из гомогенатов в латентном состоянии. Их активацию вызывают воздействия гипотонической среды, лецитиназы, протеолитических ферментов, детергентов или замораживания и оттаивания.

3. Как правило, перечисленные энзимы выделяются в одной фракции и активируются одновременно. Используя фракционирование гомогенатов в градиенте плотности, из печени крысы удалось выделить чистую фракцию («легкие митохондрии»), в которой не содержались окислительные ферменты, но имелась высокая концентрация растворимых гидролаз с оптимумом действия в кислой среде.

Эти биохимические данные привели к гипотезе о существовании в клетке особых телец, в которых сосредоточены

растворимые гидролитические ферменты (отсюда название «лизосомы»). Предполагают, что эти тельца ограничены оболочкой, которая предотвращает действие гидролаз на цитоплазму. Судя по факторам, вызывающим активацию ферментов (и разрушение оболочки), допускают, что мем-

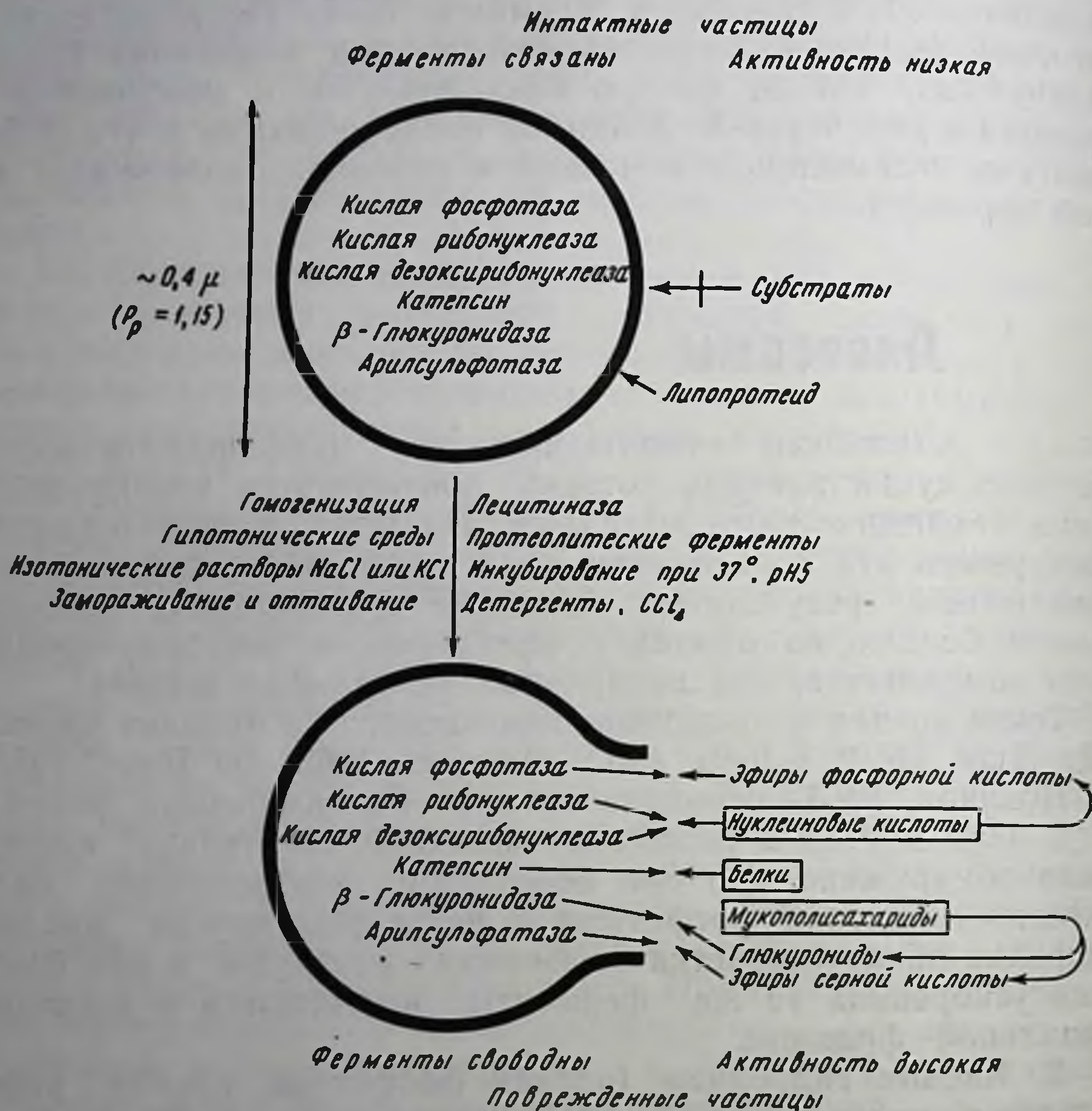


Рис. 47. Гипотетическая схема строения лизосом (по Де Дюву, 1962).

брана лизосом состоит из липопротеидов. По данным о седиментации ферментов в 0,25 М растворе сахарозы было вычислено, что средний диаметр частиц должен быть равен приблизительно 0,4 μ, а средняя плотность — около 1,15 (рис. 47).

Для изучения гипотетических частиц были предприняты электронномикроскопические исследования фракции печени с высоким содержанием кислой фосфатазы. В этой фракции, кроме некоторого количества митохондрий и микросом, обнаружены частицы, отсутствовавшие во фракциях, бедных гид-

ролазами. Найденные частицы, которые сразу были идентифицированы с лизосомами, оказались очень полиморфными. Самые простые из них окружены одноконтурной оболочкой и заполнены плотным содержимым. Внутри некоторых лизосом были видны неправильной формы полости, располо-

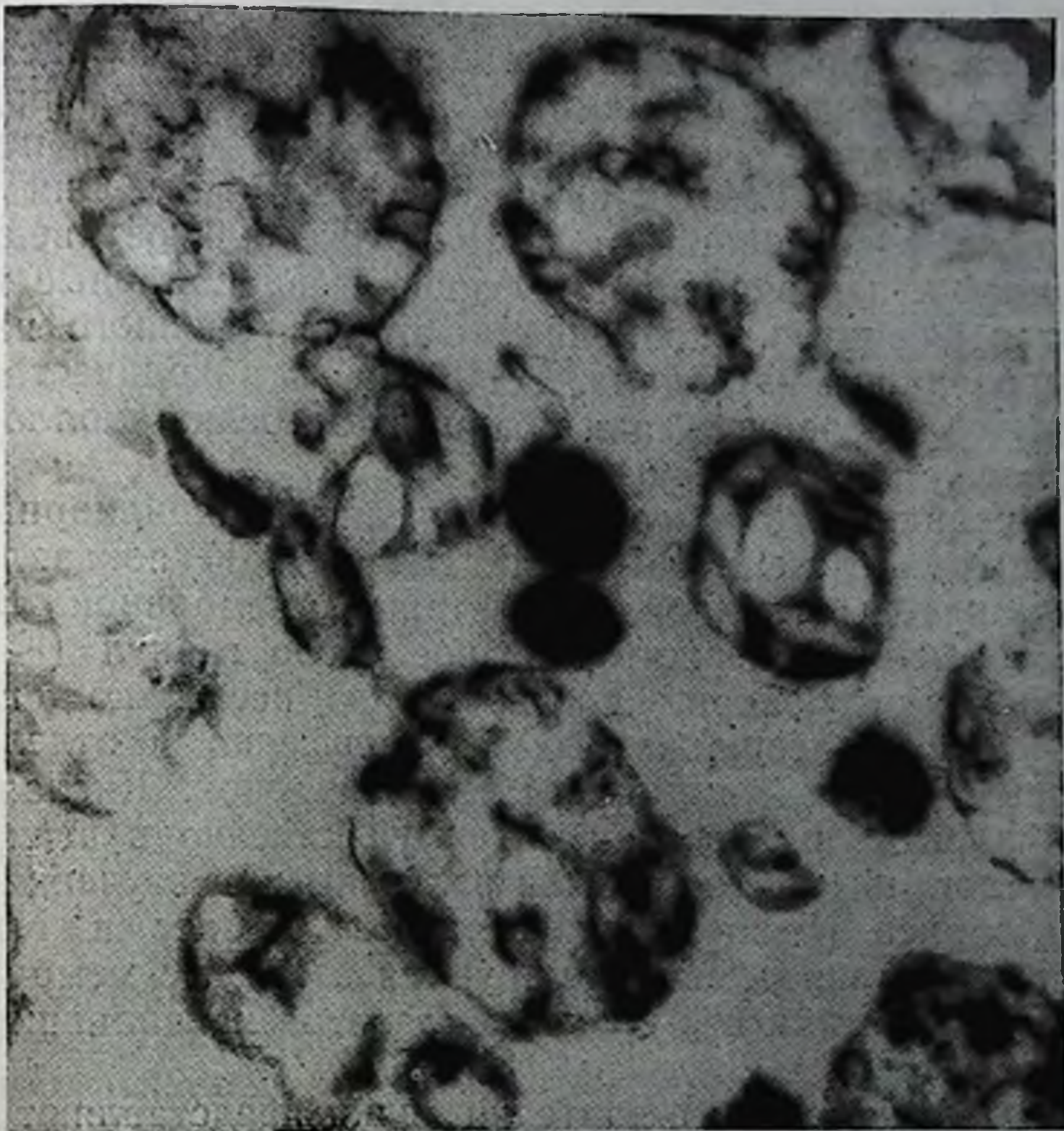


Рис. 48. Электронномикроскопическая фотография фракции, содержащей максимальное количество кислой фосфатазы (по Де Дюву, 1962).

женные в плотном веществе (рис. 48). Большой частью выделенные частицы имели тонкозернистую структуру. Мелкие зерна в лизосомах сильно поглощали электроны и напоминали мицеллы железа в кристаллическом ферритине. Химические исследования подтвердили, что около 10% ферритина клетки содержится в лизосомах.

В связи с грубостью метода фракционного центрифугирования гомогенатов и опытом изучения микросом после первых же исследований стало ясно, что основным доказательством существования лизосом может служить только обнаружение этих частиц в целой клетке. Прежде всего

обратили внимание на различные описанные ранее включения: «перибилиарные тельца» в клетках печени, «белковые капельки» или «микротельца» эпителия почки, «остаточные тельца» макрофагов селезенки и др. Критериями идентификации этих образований с лизосомами служили содержание кислой фосфатазы и наличие ограничивающей мембраны.

Перибилиарные тельца представляют собой плотные включения, расположенные около желчных канальцев. Они ограничены одинарной мембраной и содержат ферритиноподобные гранулы. Перибилиарные тельца дают положительную реакцию Гомори на кислую фосфатазу. Они содержат также фосфолипиды и ШИК-положительное вещество, устойчивое к перевариванию слюной. Перибилиарные тельца являются, вероятно, скоплением фагоцитированного или пиноцитированного материала. Их размеры и количество увеличиваются после введения в организм белка, коллоидных красителей и билирубина.

Электронно-цитохимическое изучение перибилиарных телец (Daems, Rijssel, 1961; Holt, Hicks, 1961) показало, что они ограничены гладкой элементарной мембраной. Внутри каждого тельца содержится разное число гранул ($\sim 55 \text{ \AA}$) высокой электронной плотности и несколько глыбок ($0,03\text{--}0,2 \text{ \mu}$), расположенных по периферии и отделенных от ограничивающей мембраны светлой зоной. Кислая фосфатаза клетки локализована преимущественно в этих тельцах. Аналогичные данные были получены при изучении гепатомы Морриса (Essner, Novikoff, 1962). Essner и Novikoff полагают, что лизосомы формируются в связи с мембранами комплекса Гольджи и в процессе развития накапливают кислую фосфатазу.

Белковые капельки в эпителии почки представляют собой довольно крупные сферические, грамположительные тельца, размеры которых варьируют от $0,1$ до 5 \mu . Они расположены в базальной части клетки, ограничены элементарной мембраной и заполнены веществом умеренной электронной плотности. Капельки рассматривают как один из заключительных этапов всасывания белка почечным эпителием. После введения белка отмечается накопление его в каплевидных образованиях.

В последние годы стремление распространить существование «нового органоида» на все клетки еще более осложнило поиски этих образований *in situ*. Лизосомы стали описывать во всех клетках, дающих положительную реакцию на кислую фосфатазу (А. Новиков, 1963). С нашей точки зрения нельзя отождествлять осадок фосфата свинца с «окрашиванием» лизосом, тем более что во многих тканях обнаружены свободные гидролазы (например, в селезенке выяв-

лено около 60%, а в щитовидной железе около 70—80% свободной кислой фосфатазы). Однако некоторые хорошо изученные компоненты клетки (комплекс Гольджи, рибосомы) также могут содержать кислую фосфатазу. Затруднения с морфологической идентификацией лизосом привели к представлению, что «биохимическое понятие лизосом, возможно, объединяет несколько биологически и морфологически самостоятельных частиц» (Де Дюв, 1962).

Биохимическая характеристика лизосом позволяла предполагать участие этих образований в процессах кислотного гидролиза, с которым связано переваривание чужеродных веществ при фагоцитозе и пиноцитозе (см. главу XII). Давно высказываются соображения, что лизосомы представляют собой скопления веществ, попавших в клетку при внутриклеточном пищеварении, т. е. являются остатком пищеварительной вакуоли — «остаточными тельцами» (Palade, 1954; Bennett, 1956). Связь между лизосомами и пиноцитозом наиболее детально изучается на эпителиях почки и печени.

К лизосомам близки так называемые фагосомы. Понятие о фагосомах было введено Straus (1959, 1961). Им было показано, что после инъекции белка (пероксидазы хрена) он накапливается в эпителии почки в виде плотных телец — фагосом. Белок проникает внутрь клетки в микропиноцитозных вакуолях, которые возникают у концов канальцев, вдающихся в цитоплазму между соседними микроворсинками. Микропиноцитозные вакуоли у апикальной поверхности клетки сливаются в более крупные пузырьки. В последних введенный белок можно обнаружить через 5—30 минут после инъекции. Через 2 часа белок уже исчезает из апикальных вакуолей и сосредоточивается в «капельках» — фагосомах. Аналогичные образования были описаны в клетках печени после введения пероксидазы (Jacques, 1960) и декстрана (Daems, 1962).

Авторы гипотезы о лизосомах полагают, что фагосомы представляют собой образования, возникающие в результате фагоцитоза или пиноцитоза, и содержат вещества, подлежащие внутриклеточному перевариванию. Этот процесс осуществляется путем слияния фагосом с лизосомами (доставка гидролаз) с образованием пищеварительной вакуоли (De Duve, 1963; Straus, 1964). Однако в литературе, посвященной этим образованиям, оба понятия часто отождествляют и те же перибиллиарные тельца и «капельки» рассматривают то как лизосомы, то как фагосомы, так как морфологически их трудно дифференцировать.

Данные о связи лизосом с пиноцитозом позволяют представить себе эти гипотетические образования иначе, чем их интерпретируют авторы. Лизосомы трудно отнести к типу

структур, аналогичных органоидам. Перибилиарные тельца, капельки и фагосомы не являются функционально активными элементами, а представляют собой конечные стадии изменений пиноцитозных вакуолей, в которых собственно и происходит внутриклеточное пищеварение. Образования, которые отождествляют с лизосомами, это — скопления фагцитированного или пиноцитированного материала, т. е. временные образования клетки, продукты ее жизнедеятельности, которые в отличие от органоидов возникают и выделяются из цитоплазмы подобно включениям. К этому типу внутриклеточных структур их, вероятно, и следует отнести. Если в качестве лизосом рассматривать пиноцитозные вакуоли, то понятие «лизосом» вообще теряет смысл и речь должна идти не о «новом органоиде», а о новом названии для пиноцитозных вакуолей. В пользу интерпретации лизосом как различных временных включений клетки свидетельствует ряд наблюдений.

1. Ультраструктурные изменения клетки в процессе поглощения и накопления заведомо чужеродного вещества: полуколлоидного витального красителя — трипанового синего (Trump, 1961). В эпителии почки крысы трипановый синий поглощается путем пиноцитоза. Через 1—2 суток после инъекции витальный краситель накапливается в виде крупных телец (0,3—3 μ), ограниченных мембраной и содержащих, кроме краски, плотные гранулы и нитевидные структуры. Эти тельца, названные автором «цитосомы», дают интенсивную реакцию на кислую фосфатазу и идентичны лизосомам.

2. На разных объектах были описаны плотные тельца, связанные с разрушением внутриклеточных структур. Подобные тельца обнаружены на определенных стадиях дифференцирования эпителия двенадцатиперстной кишки 17—18-дневных эмбрионов крысы (Behnke, 1963), а также в клетках печени (Ashford et al., 1962) и в растительных клетках (Роих, 1963). Они окружены одно- или двухконтурной мембраной и содержат внутри разрушающиеся митохондрии, рибосомы и элементы эндоплазматической сети. Эти образования характеризуются высоким содержанием кислой фосфатазы. Аналогичные структуры были описаны под названием «цитолисомы» в клетках жировых тел крысы (Napolitano, 1963). Ультраструктура этих образований, отождествляемых авторами с лизосомами, не оставляет сомнений, что они не являются органоидом клетки, а представляют собой временные включения, возникающие в связи с разрушением в цитоплазме ее отмирающих компонентов (см. главу XVI).

3. По данным А. Новикова (1963), отложения в печени «пигмента изнашивания» — липофусцина — приурочено к пе-

рибилиарным лизосомам, которые при этом превращаются в золотисто-коричневые гранулы.

4. Имеются данные, прямо свидетельствующие, что лизосомы являются временными образованиями клетки, возникающими в процессе ее жизнедеятельности. Так, в эпителии канальцев почечных сосочков крысы при электронномикроскопических и цитохимических исследованиях (реакция на кислую фосфатазу) не удалось обнаружить образований, которые можно было бы идентифицировать с лизосомами (Moggridson, Rapner, 1963). Только при содержании животных на бескалорийной диете в почечном эпителии появлялось большое число лизосом, отличавшихся высоким содержанием кислой фосфатазы.

Таким образом, все, что до сих пор было описано под названием лизосом, можно идентифицировать с различными параплазматическими образованиями клетки, являющимися продуктами ее жизнедеятельности, чаще всего связанными с пиноцитозом собственных и чужеродных веществ. Вместе с тем изложенные наблюдения показывают, что образования, которые идентифицируют с лизосомами, представляют собой морфологически и функционально совершенно разнородную группу включений.

Согласно гипотезе о лизосомах, эти образования играют важную роль в процессах физиологического и патологического аутолиза. Полагают, что после завершения внутриклеточного пищеварения лизосомы еще долгое время сохраняют не только остатки фагоцитированного материала, но и ферменты, которые накопились в пиноцитозных вакуолях. Если эти ферменты первоначально (в пиноцитозных вакуолях) осуществляли защитную функцию клетки, то в лизосомах они могут проявить свое действие уже против самой клетки.

Учитывая биохимическую характеристику лизосом, допускают их участие в процессах физиологического аутолиза и в освобождении ткани от гибнущих клеток. Считают, что с освобождением и активацией кислых гидролаз связаны такие процессы, как возрастная инволюция зубной железы, обратное развитие матки после родов, инволюция атретических тел, а также инволюция хвоста головастика при метаморфозе, мюллерова канала и мезонефроса — в процессе эмбриогенеза. Полагают также, что лизосомы участвуют в развитии некротического процесса. Биохимическими исследованиями было показано, что при некоторых формах патологических изменений печени (ишемия, длительное голодание, перевязка желчного протока, воздействие четыреххлористого углерода и др.) имеется прямая зависимость между интенсивностью некротического процесса и освобождением активных гидролаз.

Физиологическая часть гипотезы о лизосомах, так же как и ее морфологическая часть, сталкивается с серьезным затруднением. В процессах внутриклеточного пищеварения и в процессах аутолиза принимают участие не только кислые, но и щелочные гидролазы. Однако в отношении их пока нет никаких данных, что они сосредоточены в лизосомах или каких-либо иных оформленных тельцах.

Эту краткую главу мы вынуждены закончить тем же, с чего она была начата. Наши сведения о лизосомах еще крайне неопределенны и дискуссионны. С сожалением приходится констатировать, что для лизосом пока не повторяется известная история с открытием планеты Нептун: в 1845 г. Леверье на основании математических вычислений предсказал существование и расположение новой планеты, которая через год была обнаружена немецким астрономом Галле. Гипотеза о существовании «нового органоида» клетки, высказанная около 10 лет назад биохимиками, все еще остается гипотезой.

Если лизосомы как самостоятельные структуры существуют в клетке, то они во всяком случае не являются особым органоидом с четко очерченными морфологическими и физиологическими особенностями. Попытки идентифицировать лизосомы в целой клетке пока приводят к тому, что свойствами лизосом наделяется совершенно разнородная группа временных параплазматических продуктов жизнедеятельности клетки, объединенных лишь высоким содержанием гидролитических ферментов.

Развитие представлений о лизосомах привело к мысли о существовании и других цитоплазматических частиц, содержащих уриказу, и частиц с моноаминооксидазой. Эти частицы изучены еще меньше, морфологически не идентифицированы, и их существование еще более проблематично.

ЛИТЕРАТУРА

- Браше Ж. Биохимическая цитология. М., 1960.
Гуровитц Ф., Крэмpton Ч. Роль ядра в синтезе белков. В кн.: Современные проблемы цитологии. М., 1955, стр. 39—50.
Де Дюв. Лизосомы — новый тип цитоплазматических частиц. В кн.: Структурные компоненты клетки. М., 1962, стр. 128—172.
Де Дюв. Идентификация и характеристика особых цитоплазматических частиц печени крысы. Симпозиум II, М., 1962, стр. 171—178. Труды IV Международного биохимического конгресса.
Де Дюв. Некоторые вопросы топографии регуляции клеточного обмена. В кн.: Регуляция клеточного обмена. М., 1962, стр. 65—74.
Кедровский Б. В. Успехи совр. биол., 1948, 26, 1, 569—579.
Линдберг О., Эрнстер Л. Химия и физиология митохондрий и микросом. В кн.: Проблемы цитофизиологии. М., 1957, 111—225.
Новиков А. Лизосомы и родственные им гранулы. В кн.: Функциональная морфология клетки. М., 1963, стр. 113—158.

Сикевитц Ф. О значении внутриклеточной структуры для регуляции обмена. В кн.: Регуляция клеточного обмена. М., 1962, стр. 27—64.
Хесин Р. В. Успехи совр. биол., 1961, 31, 1, 57.
Хогбум Д., Шнейдер В. Цитоплазма. В кн.: Нуклеиновые кислоты. М., 1957, 102—141.

- Ashford T. P., Porter K. R., Behnke O. J. Cell Biol., 1953, 18, 2, 251—265.
Behnke O. J. Cell. Biol., 1963, 18, 2, 251—265.
Bennett H. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1956, 2, 185.
Bensley R. В кн.: Frontiers in Cytochemistry. Biol. Symp. ed. by Cattell. v. X. Lancaster, 1943.
Bernhard W., Gautier A., Rouiller C. Arch. Anat. Micr. Morph. exp., 1954, 43, 3, 236—275.
Bernhard W., Rouiller C. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1956, 2, 2, 73.
Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smith A. J., Keighley G., Lowy P. H., Brachet. Federat. Proc., 1950, 9, 154—155.
Claude A. Science, 1943, 97, 451—456.
Daems W. Distribution of acid phosphatase in liver tissue of dextran-injected mice as observed with the electron microscope. В кн.: Electron Microscopy. v. 2. New York—London Acad. Press, 1962, VV 12.
Daems W., Rijssel Th. G. J. Ultrastruct. Res., 1961, 5, n 3, 263—290.
De Duve Ch. Scient. Am., 1963, 208, 5, 64—72.
Essner E., Novikoff A. B. J. Cell. Biol., 1962, 15, 2, 292—314.
Hers H. G., Berthet J., Berthet L., de Duve C. Bull. Soc. Chim. Biol., 1951, 33, 21—41.
Hogeboom G. H. J. Biol. Chem., 1949, 177, 847—858.
Hogeboom G. H., Schneider W. C. J. Biol. Chem., 1950, 186, 417—427.
Holt S. J., Hicks K. M. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1961, 11, 1, 47—66.
Hultin T. Exp. Cell Res., 1950, 1, 376—381.
Jacques P. Arch. Intern. Physiol. Biochim., 1960, 68, 4, 683—684.
Keller E. B. Federat. Proc., 1951, 10, 206.
Kuff E. L., Hogeboom G. H., Dalton A. J. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1956, 2, 33.
Massieu G. Rev. Fac. Med. Univ. nac. autónoma Mexico, 1962, 4, 3, 189—198.
Morrisson A. B., Panner B. Science, 1963, 142, 3595, 1066—1068.
Morrisson A. B., Panner B. Amer. J. Pathol., 1964, 45, 2, 295—311.
Napolitano L. J. Cell Biol., 1963, 18, 2, 478—481.
Palade G., Siekevitz P. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1956, 2, 171.
Poux Nicole. Compt. rend. Acad. Sci., 1963, 257, 3, 736—738.
Scheib D. Année Biol., 1962, 1, 1, 35—52.
Schneider W. C., Hogeboom G. H. Cancer Res., 1951, 11, 1—22.
Siekevitz Ph. J. Biol. Chem., 1952, 195, 549—565.
Siekevitz Ph., Palade G. E. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1959, 5, N 1, 1—10.
Slautterback D. B. Exptl. Cell Res., 1953, 5, 1, 173.
Straus W. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1959, 5, 193.
Straus W. Exptl. Cell Res., 1961, 22, 282—291.
Straus W. J. Cell Biol., 1964, 21, 3, 295—308.
Trump B. F. J. Ultrastruct. Res., 1961, 5, 3, 291—310.

VII

КЛЕТОЧНЫЙ ЦЕНТР

Впервые структура, называемая позднее клеточным, или митотическим, центром, была открыта в 1875 г. О. Гертвигом. Клеточным центром он назвал образования на вершине веретена деления, обнаруженные им при описании процесса оплодотворения у иглокожих. В следующем году Э. ван Бенеден описал подобное образование в яйцах плоских червей, названное им сначала «полярной корпускулой», а потом «центральной корпускулой», или «центральным тельцем». Наблюдения за этой структурой были затруднены вследствие чрезвычайно малых ее размеров, близких к пределам разрешения микроскопа, и неудачного выбора объекта.

Весьма удачным объектом, как и для ряда других цитологических наблюдений, в данном случае оказались яйца аскариды, в которых ван Бенеден установил (1887), что центральное тельце делится при делении клеток и что между образующимися тельцами возникает веретено деления.

Морфология. К концу прошлого столетия, после введения Гейденгайном метода окрашивания гистологических препаратов железным гематоксилином, на различных клет-

ках было показано, что клеточный центр состоит из двух (или более) хромофильных центральных телец—центриолей, расположенных в центре сферической массы, называемой неодинаково разными авторами: центроплазмой, центросомой, или центросферой. Центриоли выявлялись в виде резко очерченных плотных гранул (раз-

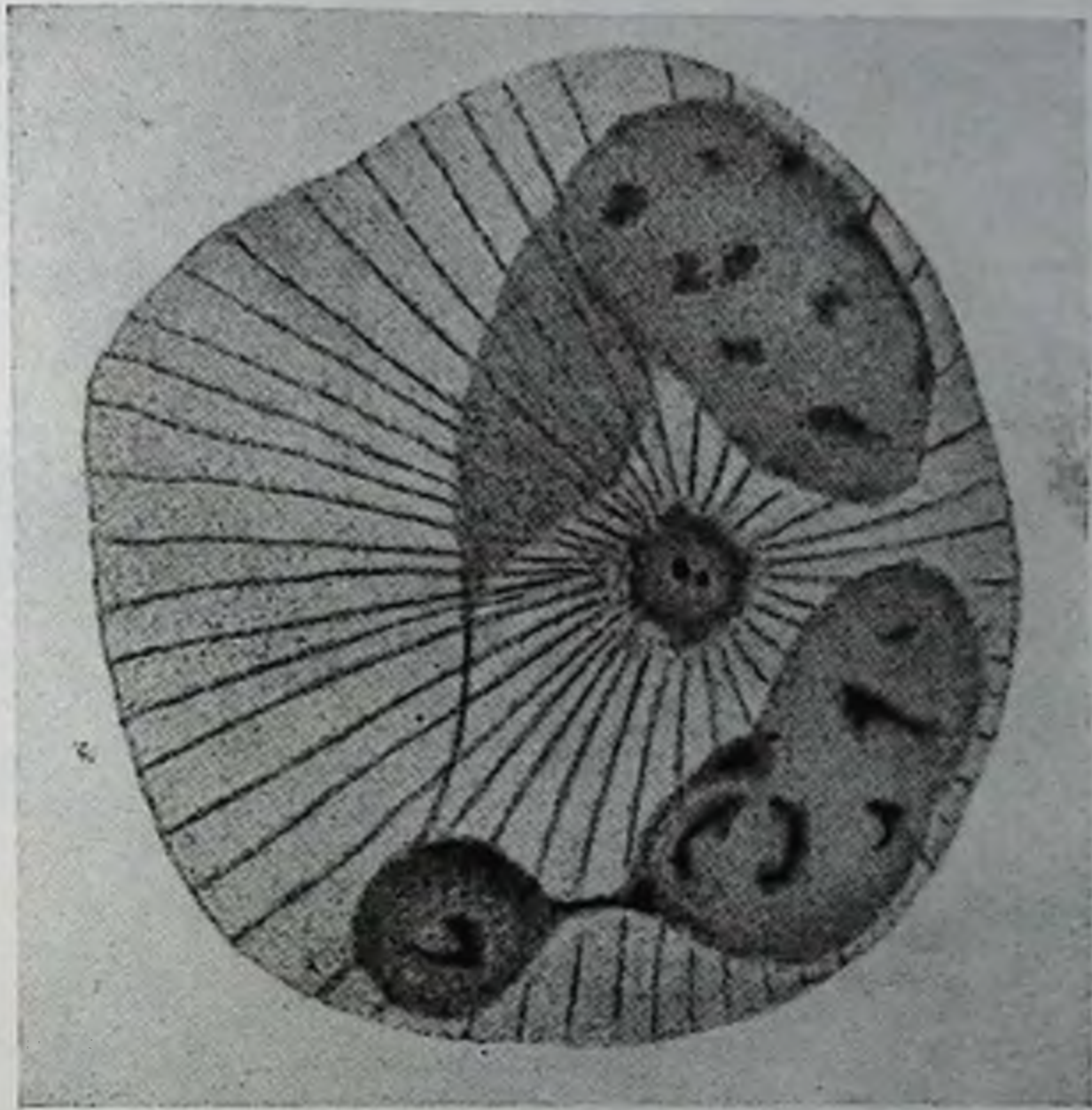


Рис. 49. Клеточный центр лейкоцита саламандры.

мером $0,2—0,8 \mu$), соединенных между собой узкой перемычкой — центродесмозой, которые способны, как считал Гейденгайн, к росту и размножению почкованием. Группу центриолей Гейденгайн обозначил как микроцентр, а группа из двух центриолей была названа диплосомой. Такой вид клеточный центр имеет в интерфазной клетке (рис. 49), а во время митотического цикла строение его может усложняться образованием вокруг центросомы лучистой зоны — астросферы.

Основные сведения о строении клеточного центра получены на основании электронномикроскопических исследований, которые, к сожалению, пока малочисленны.

Центриоль имеет вид цилиндрического тельца длиной $0,3—0,6 \mu$ и диаметром $0,1—0,15 \mu$. Внутренняя его часть обладает небольшой плотностью, в отличие от стенки, имеющей высокую электронную плотность. Эта стенка образована

трубочками, расположенными параллельно друг другу по периферии полого цилиндра, вдоль его длинной оси (само название трубочки отражает только то, что ее содержимое имеет меньшую электронную плотность, чем стенка). Число этих трубочек постоянно в разных клетках — их всегда 9, точнее 9 групп трубочек, каждая из которых может содер-



Рис. 50. Клеточный центр сперматиды. Электронномикроскопическая фотография. Центриоли расположены перпендикулярно друг к другу (по Rhodin, 1963).

1 — поперечный срез; видны 9 групп трубочек по три в каждой; 2 — продольный срез.

жать 1—3 структурные единицы, разделенные промежуточным плотным гомогенным веществом. Диаметр трубочек равен 150—200 Å, а их «просвет» — около 50 Å (Bernhard, Harven, 1956; Harven, Bernhard, 1956; Amano, 1957; Bessis, Breton-Gorius, Thiégu, 1958). Центриоли обычно бывают парными и расположены перпендикулярно друг к другу, причем такая их взаимная ориентация может сохраняться и при их расхождении для образования полюсов (рис. 50). Таким образом, оси центриолей определяют оси деления. Цилиндри-

ческое строение центриолей найдено в клетках разных типов, но возможны и другие варианты их структуры.

С использованием метода затенения (напыления) клеток было показано, что вещество центросферы менее богато водой и плотнее вещества окружающей его цитоплазмы. Это обусловлено более высокой концентрацией в ней протеинов.

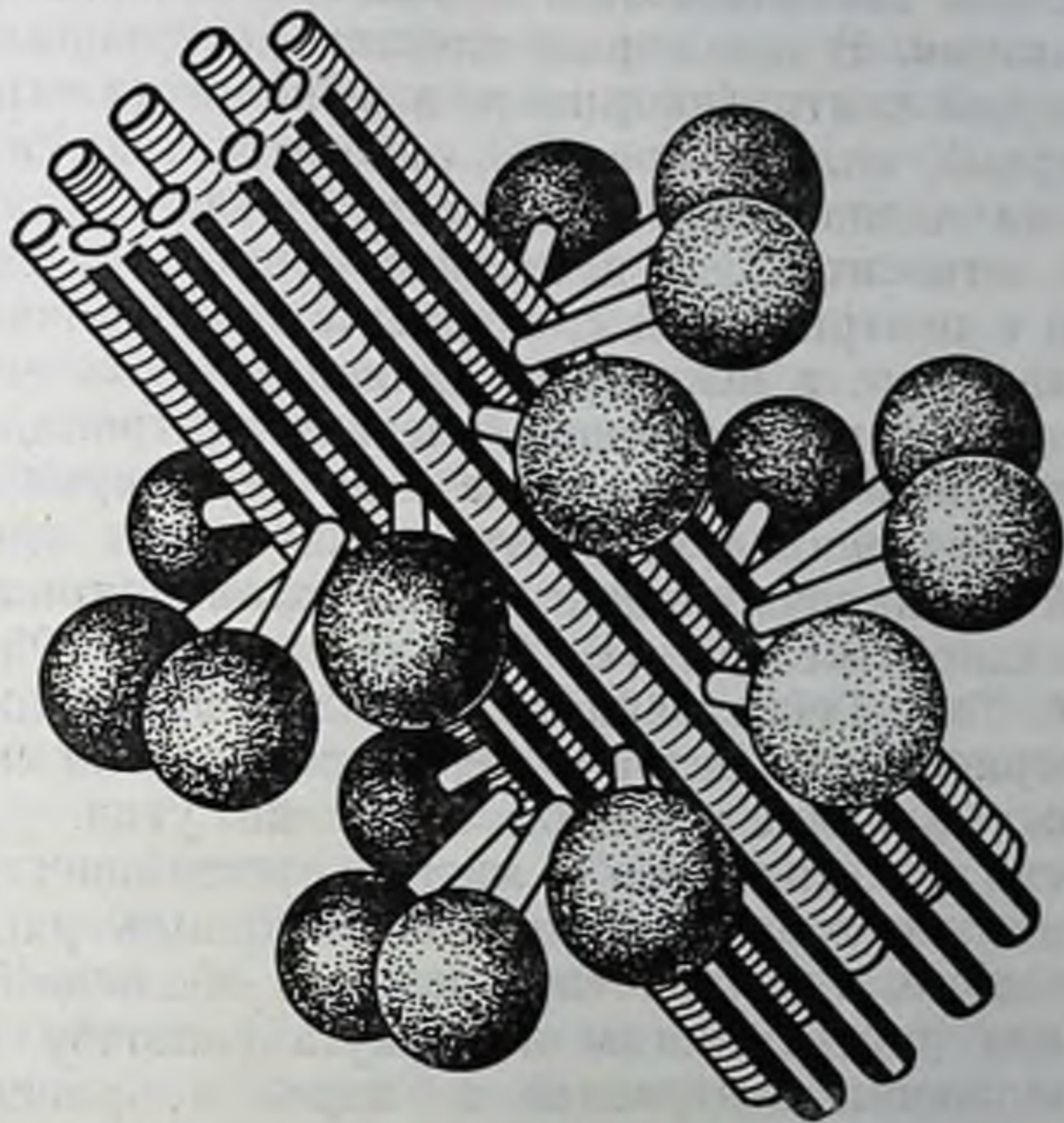


Рис. 51. Схема гипотетической структуры центриоли (9 трубочек с отходящими от них перичентриолярными тельцами или сателлитами). По Bessis et al., 1958.

В центросфере отсутствует мембрана, отграничивающая ее от остальной цитоплазмы. Митохондрии в центросфере отсутствуют. Эндоплазматическая сеть представлена в ней мелкими пузырьками, наблюдаются переходные формы между ними и вакуолями обычной эндоплазматической сети. Рибонуклеопротеидные гранулы и большие вакуоли в ней не обнаружены. Центросфера во многих клетках оплетена элементами комплекса Гольджи (например, в лейкоцитах).

При электронномикроскопических наблюдениях были обнаружены перичентриолярные структуры, или «сателлиты» (рис. 51), диаметром около 700 Å, прикрепленные иногда к стенкам центриоли. Интерес представляют также отходящие под прямым углом от материнской центриоли дочерние центриоли. Такое расположение согласуется с данными, что в диплосоме обе центриоли расположены под прямым углом.

Имеются предположения, что перицентриолярные структуры связаны с фазами активности центриоли, т. е. являются временными образованиями. Szollosi (1964) при электронно-микроскопическом исследовании сперматид медузы обнаружил прикрепление нитей веретена к сателлитам, что противоречит данным других исследователей, считающих, что нити веретена слепо заканчиваются в области центриолей.

Локализация. В некоторых клетках центриоли занимают геометрический центр (например, в лейкоцитах с подковообразным ядром), но, как правило, они оттесняются ядром и включениями цитоплазмы. Однако и в этих случаях положение их относительно постоянно — линия, соединяющая центр ядра с центриолями, совпадает с геометрической осью клетки (например, в некоторых цилиндрических эпителиальных клетках). В многоядерных клетках центриоли расположены в середине клетки, а ядра — по периферии. Имеются данные об изменении в ходе онтогенеза формы центриоли — от круглой до палочковидной в межфолликулярном эпителии щитовидной железы (В. Я. Александров, 1930) — и ее положения. Так, Гейденгайн наблюдал постепенное перемещение центриоли от центра к периферии клетки при развитии красных кровяных клеток эмбриона утки.

Интересно отметить, что у многих простейших и в половых клетках некоторых организмов центриоль расположена не в цитоплазме, а внутри ядра, под его оболочкой. Это дало основание протистологам выдвинуть гипотезу о первичном расположении центриолей в ядре и рассматривать нахождение их в цитоплазме как явление вторичное, приобретенное в филогенезе. При этом центриоль рассматривается как часть ядра, которая наряду с его ахроматиновой частью выполняет локомоторную функцию, в противоположность хроматиновой части ядра, являющейся генеративным компонентом клетки.

Методы выявления. Во времена Гейденгайна все имеющиеся сведения о клеточном центре были получены в основном на фиксированном материале при окраске железным гематоксилином. Имелись лишь единичные витальные наблюдения в клетках эпителия яичника и эпителия желудка лягушки и кошки.

С развитием микроскопической техники при витальном наблюдении над клеточным центром применяли два метода: микроманипуляцию и фазовоконтрастную микрокинематографию. Микроманипуляцией было установлено, что центросфера представляет собой вязкое, плотное образование. Еще Chambergs (1917) обнаружил, что микроиглой можно толкать, передвигать и растягивать центросферу вместе с сиянием. При применении второго метода удалось наблю-

дать деление центриоли, передвижение ее к полюсам (во время митоза фибробластов). Было также показано, что центросфера образует в клетке своего рода препятствие при собственных цитоплазме движениях — о нее ударяются различные гранулы и митохондрии, увлеченные цитоплазматическими течениями, и что центросфере свойственны колебательные, маятникообразные ритмические перемещения с периодом, равным, например, для гистиоцитов, приблизительно 1 минуте. Наблюдая за живыми эозинофилами тритона Casasco и Strosselli (1961) нашли, что центросфера, совершая маятникообразные движения, удаляясь от ядра и снова приближаясь к нему, увлекает при этом эозинофильные гранулы. Весь клеточный центр образует с гранулами единое целое и перемещается при движении клетки, сохраняя взаимоотношения неизменными.

Микрокинематографические наблюдения также свидетельствуют о плотности центросферы — было отмечено, что прислоняясь к ядру, она деформирует его.

Химический состав. Основные успехи, достигнутые в изучении химического состава отдельных клеточных компонентов, связаны с применением метода фракционного центрифугирования, позволяющего выделить «фракцию» отдельного компонента клетки в количестве, достаточном для биохимического анализа. Для клеточного центра этот метод не разработан, и, учитывая незначительные размеры данного органоида, вряд ли можно ожидать существенных успехов, подходя таким образом к его изучению.

Более перспективным представляется изучение химического состава клеточного центра при использовании метода выделения всего митотического аппарата из живых клеток (Mazia, 1959) с последующим отделением от него волокнистых компонентов.

Пока наши сведения о химическом составе клеточного центра ограничиваются лишь скудными цитохимическими данными. И в этом случае малые размеры органоида служат серьезным препятствием; поэтому основные работы выполнены на патологически измененных клетках, в которых центросфера сильно гипертрофирована. При изучении эпителиоидных и гигантских клеток лимфатических узлов, пораженных туберкулезом, было найдено, что центросфера (10—15 μ) содержит муко- и глюкопротеиды, совсем незначительное (по сравнению с мукопротеидами) количество липидов (Gedigk, 1954). В клеточном центре нервных клеток человека не обнаружены углеводы, SH-группы и кислотные радикалы. Весьма важным представляется вопрос о наличии в клеточном центре нуклеиновых кислот, поскольку эта цитоплазматическая структура обладает способностью к ре-

продукции. Однако имеются лишь отрицательные данные о наличии в клеточном центре ДНК и единичные сведения о наличии РНК в клеточных центрах яиц *Cyclops*.

Функции. Рядом исследований было показано, что развитие ресничек и жгутиков у простейших, а также в клетках многоклеточных, и развитие хвостовой нити спермиев связаны с центриолью. Наблюдения над развитием простейших и губок показали, что жгутики вырастают из базальных телец, блефаропластов, являющихся в свою очередь производными центриоли. Были прослежены также фазы развития ресниччатого аппарата в трахее эмбриона человека. Сначала в результате деления диплосомы возникают беспорядочно расположенные зернышки. Затем они ориентируются в ряд под свободной поверхностью клетки — пребазальные тельца, из которых растут реснички.

Было установлено, что при сперматогенезе животных дистальная по отношению к ядру центриоль сперматиды преобразуется в блефаропласт, от которого берет начало осевая нить хвоста сперматозоида.

У одних жгутиковых блефаропласт, по-видимому, выполняет роль центриоли во время митоза, у других он представляет вполне обособленную от центриоли структуру, не принимающую прямого участия в митозе, но передающуюся от поколения к поколению путем деления. У некоторых форм жгутиковых было прослежено перемещение блефаропластов к центриолям, когда те находятся у полюсов веретена, а затем обратное движение блефаропластов на периферию клетки.

Все это дало основание Неппегу и Ленхоссек выдвинуть еще в конце прошлого века (1898) гипотезу, согласно которой, клеточный центр и базальные тельца ресничек и жгутиков представляют собой гомологические и идентичные образования. Эти частицы выполняют функции либо образования нитей веретена, либо образования ресничек и жгутиков, либо обе функции одновременно, т. е. во всех случаях функции их связаны с движением — участие в процессе расхождения хромосом, локомоторные функции клетки.

Гипотеза Неппегу — Ленхоссек о центриольной природе базальных телец получила подтверждение на электронномикроскопическом уровне: оказалось, что ультраструктуры центриоли и базального тельца сходны (Fawcett, Porter, 1954; Dalhamn, 1956). Базальные тельца также имеют форму цилиндра — около 0,5 μ в длину и 0,1—0,2 μ в диаметре, стенка которого, как и у центриоли, состоит из 9 плотных образований. Следует здесь отметить, что хвост сперматозоида, нити ресничек и жгутиков связаны всегда лишь с одной из центриолей.

Клеточному центру со времен Бовери исследователи приписывают функцию ориентирования «нитей архоплазмы», т. е. оформление митотического аппарата в целом, включая веретено и звезды. Митотический аппарат, занимая значительный объем делящейся клетки, содержит около 11% общего количества белка данной клетки (Mazia, Roslansky, 1956). Таким образом, вступая в деление клетка должна или синтезировать большое количество нового вещества, или построить митотический аппарат из вещества, уже имеющегося в ней перед делением. Иммунохимическими методами было показано, что белок митотического аппарата синтезируется до деления и лишь «собирается» во время деления. «Сборка» митотического аппарата проходит, видимо, последовательные стадии «свободных» молекул, субмикроскопических волокон и, наконец, ориентированных волокон. Синтез белков, принимающих специфическое участие в «сборке» митотического аппарата, является необходимой предпосылкой деления и может быть фактором, ограничивающим возможность деления. Для представления о функциональном значении клеточного центра следует учесть ряд его особенностей — большую концентрацию в нем протеинов, отсутствие разграничительной мембраны между ним и окружающей цитоплазмой. Возможно, клеточный центр и есть та зона концентрированной цитоплазмы, в которой полимеризуются белки, образующие лучи звезд и нити веретена.

Некоторые исследователи связывают ультраструктуру центриолей со способностью к синтезу фибриллярных белков на основе сопоставления почти одинаковых диаметров трубочек центриолей и фибрилл веретена, считая при этом, что фибриллы как бы выходят из трубочек.

Какими бы ни были гипотезы о функции клеточного центра, совершенно определенным является то, что митоз поляризуется им. Полюса устанавливаются в результате расхождения клеточных центров, определяя ориентировку веретена и, следовательно, расположение хромосом (см. главу XI).

Еще Беляр (1926) предлагал считать достаточным для трактовки понятия клеточного центра его способность к самовоспроизведению и участию в построении веретена. Действительно, когда центриоли бывают неразличимы, их идентифицируют как точки схождения астральных лучей. Д. Мэзия (1963) также придает термину «митотический центр» чисто рабочее значение, т. е. независимо от того, виден ли митотический центр или нет, этим термином обозначается тельце, определяющее полюс митоза — точку, к которой движутся хромосомы. При типичном митозе хромосомы движутся так, будто они сходятся в одной общей точке, —

конвергентные веретена. Однако бывают случаи, когда в анафазе происходит расхождение путей хромосом. В связи с наличием такого неконвергентного митоза было выдвинуто предположение, что митотические центры — сложные структуры (H. Lettré, R. Lettré, 1958, 1960), составляющие элементы которых либо собраны в компактную центриоль, либо расположены линейно в одной плоскости, что и приводит к неконвергентной фигуре в митозе. Такое предположение перспективно для дальнейших электронномикроскопических исследований в поисках менее компактных полярных структур, к которым, быть может, и прикрепляются полярные концы нитей веретена.

Репродукция. Обобщив имеющиеся сведения по клеточному центру, ван Бенеден пришел к заключению, что это — клеточный органоид животной клетки, образующийся только путем деления и никогда не возникающий заново. Однако это положение, казалось, не объясняло случаев, описанных Морганом (1896) и Вильсоном (1901) — образования *de novo* цитастеров (гранулы с отходящим от них сиянием) в яйцах морского ежа и некоторых других животных, в том числе амфибий. Оказалось, что возникновение цитастеров можно вызвать искусственно и при удалении из клетки ядра (Nagvey, 1936; Logch, 1952) и даже всего митотического аппарата. Цитастеры появляются в цитоплазме и в связи с активацией яйца при искусственном партеногенезе. Обычно считают, что цитастеры образуются независимо от истинной центриоли. Браше (1957) полагает, что они могут возникать вокруг почти всяких цитоплазматических гранул. При объяснении возможных путей образования цитастеров в яйцах животных надо учесть что на поздних стадиях развития яиц этих животных происходит образование ресничек или жгутиков независимо от того, были ли они оплодотворены сперматозоидом или активированы партеногенетически. Следует предположить, что в цитоплазме партеногенетических яиц находятся частицы, из которых возникают базальные тельца. При некоторых условиях эти частицы могут превращаться в митотические центры, подобно тому, как при образовании ресничек и жгутиков происходит обратное превращение. При наличии в яйце более одной такой частицы возможно образование многих цитастеров, как это в действительности и наблюдалось. Электронномикроскопические доказательства сходства структур цитастеров с нормальными центриолями позволяют свести вопрос о возникновении цитастеров к вопросу об образовании центриолей.

Здесь же уместно рассмотреть еще один гипотетический источник образования центриолей — кинетохоры хромосом. A. Pollister и P. Pollister показали (1943, цит. по Д. Мэзия,

1963), что в некоторых сперматиде содержится ненормально малое число хромосом и соответственно увеличенное число центриолей (что связано с наличием у сперматид добавочных хвостовых нитей). Такая связь между количеством недостающих хромосом и лишних центриолей заставляет предположить, что в данном случае кинетохоры взяли на себя роль центриолей, а хромосомы, утратившие кинетохоры, уже не способны участвовать в митозе. Таким образом, хотя возникновение центриолей из кинетохоров и не объясняет образования цитастеров, поскольку они образуются и в клетках без ядра и в безъядерных фрагментах, но дает возможность рассматривать все три частицы: кинетохоры, центриоли и базальные тельца — как самовоспроизводящиеся элементы одного типа, являющиеся необходимыми организаторами ориентированных волокнистых структур.

Еще Бовери высказал мысль (1907) о зависимости количества полюсов веретена от количества центриолей и считал, как и ван Бенеден, деление центриолей первым этапом митотического деления. В настоящее время вопрос о репродукции митотических центров решается экспериментально. В работах Д. Мэзия и его сотрудников (1960) были использованы яйца морских ежей без отчетливо выраженных центриолей, но наличие звезд служило для их идентификации. Основное экспериментальное наблюдение заключалось в том, что при блокировании яиц меркаптоэтанолом в начале метафазы и последующем прекращении блокады происходит деление яйца на 4 клетки. При этом прямыми наблюдениями было установлено образование четырехполюсной фигуры митоза из двухполюсной. Естественно здесь возникает вопрос, происходит ли в данном случае редупликация центров или имеет место простое расщепление. Экспериментальные данные свидетельствуют о расщеплении центриолей, так как каждая из 4 дочерних клеток получает лишь половину нормального набора «центриольных» элементов. Это доказывает тем, что, вступая в деление, эти клетки образуют лишь однополюсные фигуры митоза. Следовательно, клетки получили лишь половину нормального числа элементов, определяющих полюса. На основании этих опытов делаются выводы: клетки вступают в деление, имея 4 потенциальных митотических центра; полюса нормальной биполярной фигуры митоза содержат по 2 элемента. Каждый из этих элементов способен образовать полюс, если ему посредством блокады ряда митотических процессов представляется возможность отщепиться от своего сестринского партнера, образующего в паре с ним митотический центр.

На примере развития жгутиковых, у которых имеется гигантская центриоль (до 24 μ), было показано, что цент-

риоль не делится, а «родительская» центриоль производит дочернюю, связанную с ней тязом до достижения размера зрелой центриоли. Во время деления рассматриваемые клетки содержат 2 пары центриолей, причем каждая из пар состоит из «старой» и «новой» центриоли. Такой способ воспроизведения Д. Мэзия назвал «генеративным»: родительское тельце дает начало маленькому. Это воспроизведение состоит как бы из трех этапов — зарождения зачатка, его роста и отделения, причем это происходит почти одновременно: в то время как «новая» центриоль отделяется от родительской, в обеих центриолях уже, видимо, появляются зачатки дочерних.

Исследованиями Д. Мэзия и его сотрудников было экспериментально выявлено, что определение «новых» потенциальных митотических центров и обособление «старых» от своих потомков хотя и происходит примерно в одно время — телофаза или ранняя интерфаза, но это два принципиально разных процесса. Эти выводы основаны на том, что в метафазе клетки содержат 4 потенциальных полюса, функционирование всех их осуществляется лишь в условиях достаточно длительной блокады клеток меркаптоэтанолом. При этом, как уже рассматривалось, функционирование не обусловлено дополнительной редупликацией, а зависит лишь от расщепления каждого из первоначальных 2 полюсов на 2 отдельности. Следовательно, процесс расщепления не зависит от «зарождения» новых элементов. Почему для получения 4 функционирующих полюсов нужна блокада меркаптоэтанолом, упомянутые авторы объясняют тем, что другие процессы митоза должны быть задержаны до тех пор, пока 2 «новых» потенциальных полюса не завершат своего развития в функционирующие полюса и не отделятся от родительских полюсов. Если новые потенциальные полюса уже определились, но еще не отделились, то из пары («родитель» и «потомок») может образоваться только один функционирующий полюс, что бывает при недостаточности блокады, в случае образования однополюсных фигур. Клетки с однополюсной фигурой не способны делиться. Они вступают в интерфазу, а затем переходят к новому митозу с нормальным числом полюсов, т. е. полюс однополярной фигуры фактически состоит из 2 элементов, которые функционируют как один, так как эти элементы еще не достигли стадии, на которой они отделяются друг от друга.

Поскольку редупликация митотических центров предшествует редупликации хромосом, были проведены исследования для выяснения зависимости этих процессов (Bucher, Mazia, 1960; цит. по Д. Мэзия, 1963). На яйцах морского ежа было показано, что синтез ДНК осуществляется в них и

в тех случаях, если редупликация центриолей была подавлена. Таким образом, оба эти процесса следует рассматривать как независимые, подготовительные к делению. Возможно, что именно репродукция митотических центров служит «мишенью» для антимитотического действия различных факторов (химических агентов, излучений и др.) в тех случаях, когда синтез ДНК оказывается нечувствительным.

ЛИТЕРАТУРА

- Александров В. Я. Русск. арх., анат., гист. и эмбр., 1930, 9 (1), 3—43.
Мэзия Д. Митоз и физиология клеточного деления. М., 1963.
Поликкар А и Бо Ш. А. В кн.: Субмикроскопические структуры клеток и тканей в норме и патологии. М., 1962, стр. 48—53; 92—93.
Шмагина А. П. Мерцательное движение. М., 1948.
- Amano S. Acta schol. med. univ. Kyoto, 1954, 32, 5.
Bernhard W., de Harven E. Compt. rend. Acad. Sci., 1956, 242, 2, 288—290.
Bessis M., Breton-Gorius J., Thiéry J. P. Rev. hématol., 1958, 13, 3, 363—386.
Casasco E., Strosselli E. Arch. ital. anat. embriol., 1961, 61, 2, 121—128.
Dalhamn T. Acta physiol. Scand., 1956, 36, Suppl. 123, 1—161.
Grassé P. P. Compt. rend. Acad. Sci., 1961, 252, 25, 3917—3921.
Gedigk P. Virch. Arch. path. Anat., 1954, 325, 3, 366—378.
Harven E., Bernhard W. Ztschr. Zellforsch., 1956, 45, 378.
Harvey E. B. Biol. Bull., 1936, 71, 1, 101—121.
Herting G. Die Centriolen. Hdb. der mikrosk. Anat. des Menschen. v. Möllendorff W., 1929, 1, 218—232.
Fawcett D. W., Porter K. R. J. Morphol., 1954, 94, 2, 221—283.
Lettré H., Lettré R. Rev. hématol., 1958, 13, 3, 335—362.
Lorch G. Quart. J. Microsc. Sci., 1952, 93, 475—486.
Policard A., Bessis M. Compt. rend. Acad. Sci., 1952, 234, 913.
Szollosi D. J. Cell Biol., 1964, 21, 3, 465—479.
Tanaka H., Uchino F. Acta haemat. Jap., 1956, 19, 571.

VIII

ПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ ОБОЛОЧКА ПРОНИЦАЕМОСТЬ КЛЕТКИ

Современные представления о плазматической (клеточной) оболочке в качестве специальным образом дифференцированного структурного компонента животных клеток связаны с внедрением в практику цитологических исследований электронной микроскопии. Последняя позволила обнаружить плазматическую оболочку у самых различных животных клеток, в то время как светооптически ее, как правило, не удавалось выявить и о ее наличии судили на основании косвенных признаков, например на основании изучения проницаемости клеток для разнообразных веществ (см. ниже), применения микрургии (опыты с инъекциями в цитоплазму красителей) и пр. Длительное время отмечалось, что описываемая на основании подобных экспериментов протоплазматическая мембрана представляет физиологическое, а не морфологическое понятие, поскольку она не видна ни при каких увеличениях светового микроскопа (Д. Л. Рубинштейн, 1947).

Вместе с тем в световом микроскопе зачастую хорошо видны слои соответствующих веществ, располагающихся снаружи от плазматической оболочки, например целлюлозные слои, находящиеся снаружи от истинной клеточной обо-

лочки растительных клеток, вещества гликопротеидной природы, окружающие яйцеклетки морского ежа, брюхоногих моллюсков, амфибий и некоторых других животных, хитин, ракообразных и т. п. Видимая в световом микроскопе так называемая оболочка оплодотворения, появляющаяся на поверхности оплодотворенных яйцеклеток морского ежа, также не представляет истинной клеточной оболочки. Указанные образования (например, целлюлозные стенки растительных клеток) обычно выполняют чисто механическую, защитную функцию. Между тем на основании светооптических исследований некоторые из перечисленных образований рассматривались в качестве настоящей клеточной мембраны, что в определенной мере затрудняло интерпретацию ряда экспериментальных наблюдений по изучению механизма проникновения в клетки разнообразных веществ.

Строение плазматической оболочки и ее химический состав

По данным электронной микроскопии, оболочка животных клеток имеет толщину около 70—100 Å, причем у значительного числа клеток (нервных, клеток крови, кожи, печени, поджелудочной железы, почек, кишечника, эндотелиальных, мышечных и др.) ее толщина равна 75 Å. Она состоит из двух осмиофильных, электронно плотных слоев (наружного и внутреннего) и располагающегося между ними менее плотного (более светлого) слоя (рис. 52). Толщина каждого из них равна 25 Å. Такая структура общей толщиной в 75 Å представляет, согласно Robertson (1959), так называемую элементарную мембрану. Как отмечено выше, она соответствует оболочке значительного числа клеток. Если же плазматическая оболочка имеет большую толщину (например, у кишечного эпителия), то трехслойный принцип строения такой оболочки сохраняется, толщина ее среднего слоя также составляет 25 Å, но толщина каждого из электронно плотных слоев является большей, составляя, например, у клеток кишечного эпителия 40 Å, при общей толщине оболочки в 105 Å. Как явствует из ряда изложенных ранее данных, типичная для плазматической оболочки трехслойная ультраструктура, свойственна и другим клеточным мембранам — мембранам митохондрий, эндоплазматической сети, комплекса Гольджи. Поэтому, согласно Д. Робертсону (1963), элементарная мембрана представляет основную структуру всех клеточных оболочек.

Указанные данные о строении плазматической оболочки были получены на материале, фиксированном KMnO_4 . После фиксации OsO_4 толщина плазматической оболочки обычно равна 65—70 Å. Использование вместо фиксации метода замораживания — высушивания, который наиболее удовлетворительно сохраняет прижизненные отношения, под-

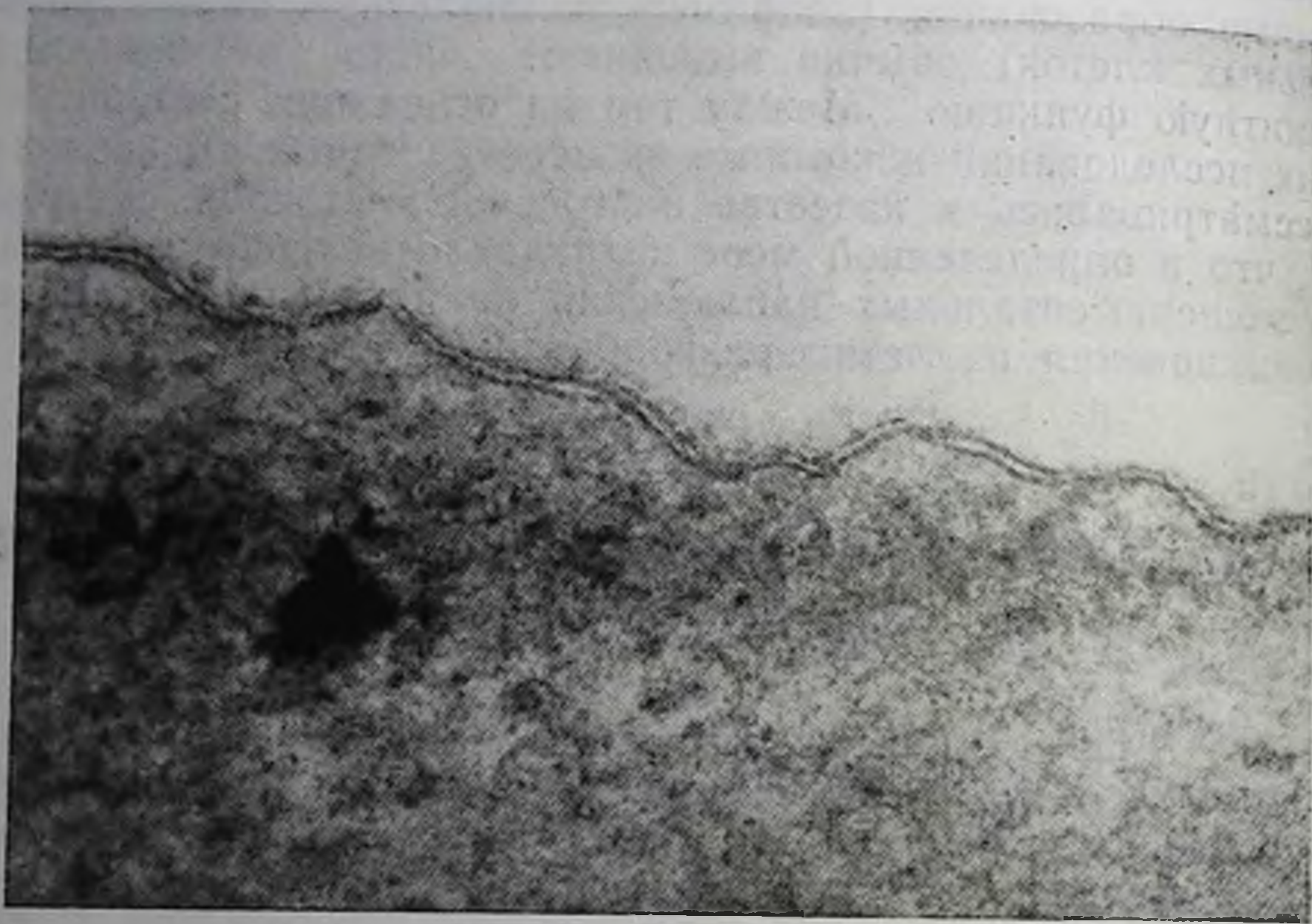


Рис. 52. Ультраструктура плазматической оболочки эритроцита. Увеличение $\times 280\,000$ (по Stoeckenius, 1962).

твердило трехслойный принцип строения плазматической оболочки, однако толщина ее в этом случае равна в среднем 95 Å (Elfvin, 1963).

Для расшифровки химического состава и организации химических компонентов плазматической оболочки определенное значение имеют результаты соответствующих модельных опытов, а также экспериментов по изучению проницаемости клеток для разнообразных веществ. Результаты последних излагаются ниже. Здесь же отметим лишь следующее: еще в самом начале XX века было установлено, что скорость проникновения в клетки молекул разнообразных веществ в определенной мере зависит от их растворимости в липидах. На этом основании предположили, что плазматическая оболочка содержит липиды. Это было подтверждено при изучении химического состава гемолизированных эритроцитов. В результате гемолиза от эритроцитов остаются

тонкие оболочки («тени»), по-видимому, представляющие клеточную оболочку с небольшой прослойкой подстилающей цитоплазмы. Было установлено, что в состав липидов оболочки эритроцитов преимущественно входят лецитин, кефалин, холестерин.

Gorter и Grendel (1925) экстрагировали липиды из эритроцитов и помещали экстракт на поверхности водной фазы под давлением по методу Ленгмюра. В этих условиях молекулы липидов располагались в один слой, причем их полярные (водорастворимые) концы были обращены к воде, а неполярные (углеродные) — в противоположную сторону. При измерении поверхности полученного мономолекулярного слоя и поверхности эритроцитов было установлено, что величина первой в 2 раза больше по сравнению со второй. Так, суммарная поверхность стандартного числа эритроцитов кролика, морской свинки и человека равнялась соответственно 0,49; 0,59; 0,47 м², а поверхность мономолекулярного слоя липидов, экстрагированного из этого же количества эритроцитов, — 0,96; 0,97; 0,92 м². Поэтому Gorter и Grendel предположили, что в оболочке эритроцита молекулы липидов располагаются в два слоя (бимолекулярный слой), причем неполярные концы каждой пары молекул обращены друг к другу, а полярные — в разные стороны.

Для последующего развития этих представлений важное значение имели результаты экспериментов, установивших проницаемость клеток для веществ, как растворимых в липидах, так и нерастворимых в них (см. ниже). Это трудно согласовать с представлениями о чисто липидном составе клеточной оболочки. Кроме того, оказалось, что поверхностное натяжение протоплазмы сравнительно мало и, например, для яиц морских ежей оно составляет около 0,1—0,2 дн/см, т. е. является значительно меньшим по сравнению с теоретически рассчитанным для липидных пленок. Совокупность этих и ряда других наблюдений позволила Davson и Danielli (1934, 1943) сформулировать положение, что плазматическая оболочка должна состоять не только из липидов, но и из белка, причем липиды в виде бимолекулярной пленки (в соответствии с приведенными выше представлениями) должны составлять центральный слой оболочки, а белковые молекулы адсорбированы на обеих его поверхностях. Таким образом, плазматическая оболочка должна быть трехслойной и состоять из белка — липидов — белка (рис. 53).

Химический анализ подтвердил данную концепцию, так как в оболочке эритроцитов наряду с липидами был обнаружен особый высокомолекулярный белок — строматин; на 1 весовую часть его приходится 1,7 весовой части липидов, т. е. на 1 молекулу белка приходится 75—90 молекул липи-

дов. Из числа последних 55—75% составляют фосфолипиды, а 15—32% — холестерин. Фосфолипиды являются гидрофильными, холестерин же гидрофобен. В сочетании с фосфолипидами и белками он делает плазматическую оболочку нерастворимой в воде (Parpart, Dziemian, 1940) ¹.

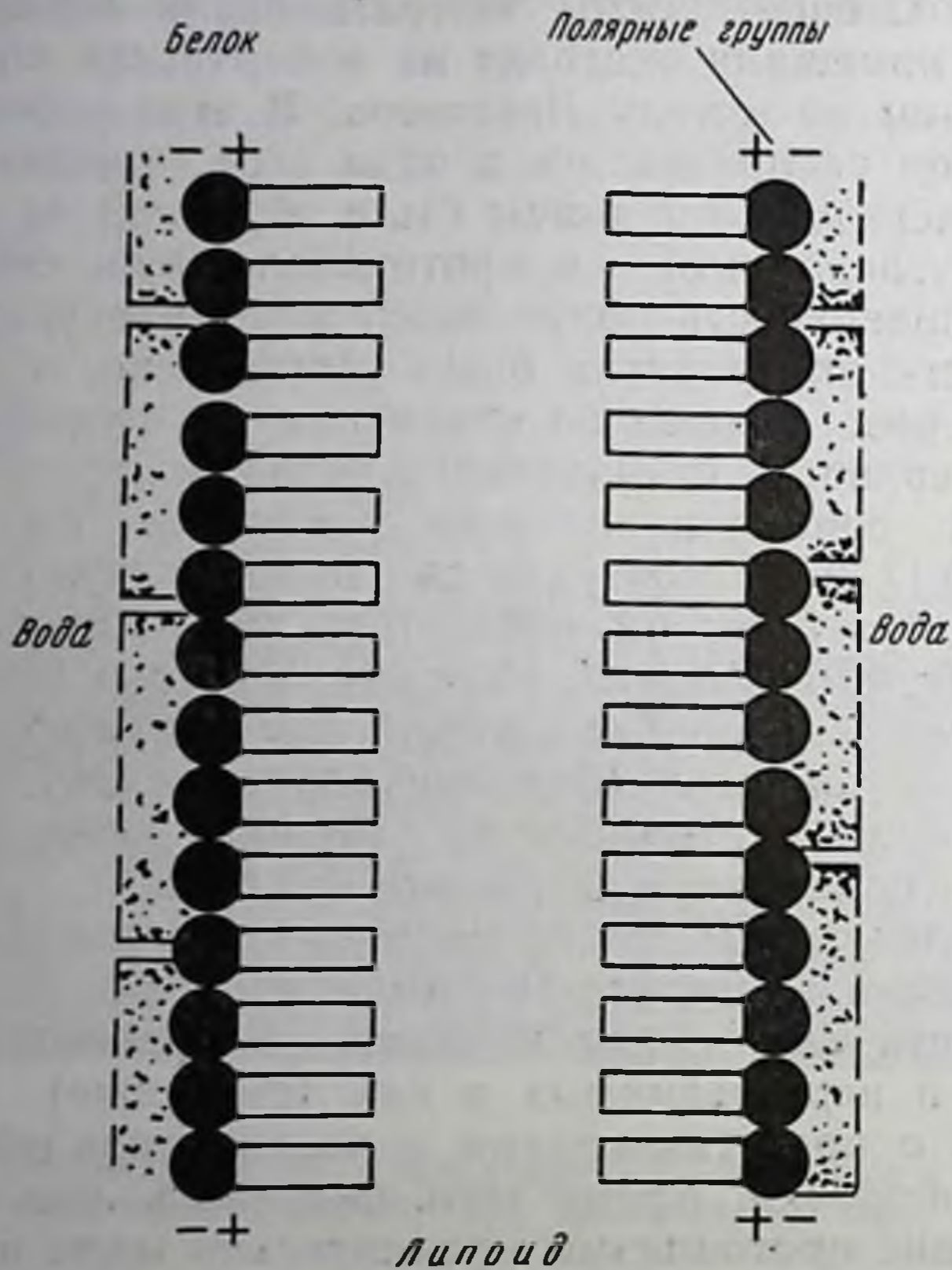


Рис. 53. Схема химической организации плазматической оболочки (по Davson, Danielli, 1943).

По данным биохимического изучения изолированной плазматической оболочки печеночных клеток, ее основу составляет фосфолипогликопротеин, к которому прикреплены растворимые в физиологическом растворе белки (Emmelot, Bos, Benedetti, 1964).

Stoeckenius (1962) исследовал электронномикроскопически зафиксированную четырехокисью осмия смесь липидов с водой, которые были предварительно экстрагированы из животных тканей. На ультратонких срезах липиды располагались в виде тонких прослоек, отделенных друг от друга

¹ В состав оболочки ряда бактерий входят также полисахариды.

водной фазой. Каждая прослойка состояла из центрального светлого слоя толщиной 25 Å и двух окаймляющих ее электронно более плотных осмиофильных слоев толщиной каждый в 8 Å (рис. 54). Если же к липиду, экстрагированному из тканей, добавить перед его эмульгированием в воде белок (глобин), то он располагается вдоль обеих поверхностей

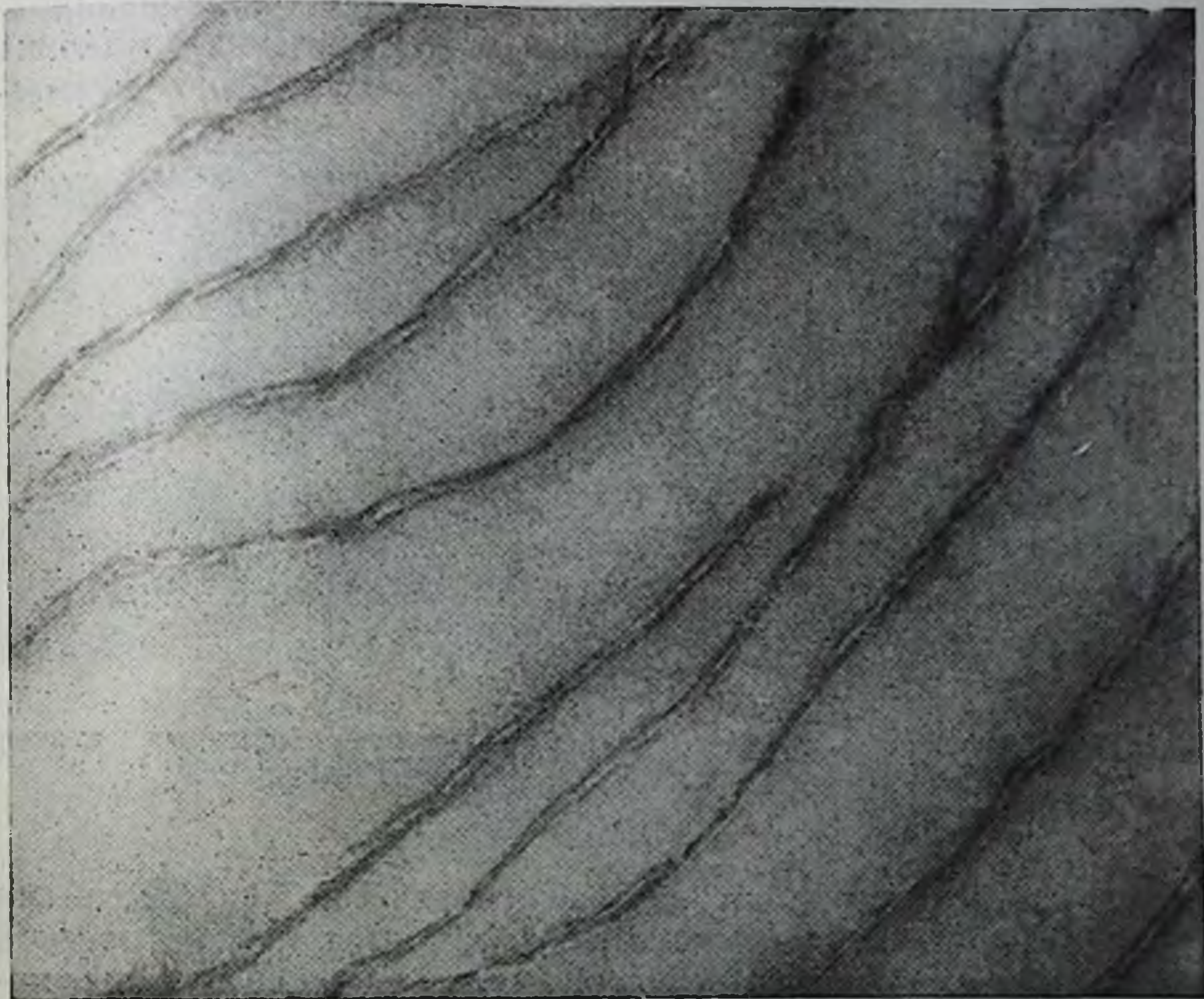


Рис. 54. Трехслойная структура прослоек фосфолипидов, эмульгированных в воде. Увеличение $\times 280\,000$ (по Stoeckenius, 1962).

липидной прослойки, утолщая оба ее электронно плотных осмиофильных слоя. При определенном соотношении липида и белка толщина каждого из осмиофильных слоев достигала 25 Å, и тогда каждая прослойка, состоящая из липида и белка, электронномикроскопически соответствовала элементарной мембране (т. е. плазматической оболочке толщиной 75 Å). При добавлении же больших количеств белка осмиофильные слои еще утолщались, соответствуя аналогичным слоям в более толстых плазматических оболочках (рис. 55).

Данные изложенных опытов представляют веское доказательство липопротеидной природы плазматической оболочки

и ее слоистого строения. Вместе с тем они являются тем связующим звеном, которое устанавливает хорошее соответствие результатов электронномикроскопических наблюдений, с одной стороны, и изложенной выше концепции Davson и Danielli — с другой.

Представления о липопротеидной природе плазматической оболочки согласуются также с результатами рентгеноструктурного, электронномикроскопического, поляризационно-микроскопического и биохимического изучения миелина нервных волокон. Электронномикроскопически было установ-



Рис. 55. Трехслойная структура фосфолипида после добавления к нему глобина. Увеличение $\times 280\,000$ (по Stoekenius, 1962).

лено, что миелин образован concentрически наложенными друг на друга слоями, которые образуются плазматической оболочкой и связаны с ней посредством так называемого мезаксона (I. Robertson, 1955; Я. Ю. Комиссарчик, 1962, и др.). Поляризационно-микроскопический и рентгеноструктурный анализы показали наличие в миелине наслоенных друг на друга липопротеидных слоев (периодов), причем, по данным метода дифракции рентгеновских лучей под малыми углами, каждый период состоит из пяти чередующихся компонентов: белок — липид — белок — липид — белок. Толщина такого периода в периферическом нерве амфибий равняется 170 \AA , а у млекопитающих $180\text{—}185\text{ \AA}$; по данным рентгеноструктурного анализа, она в свежем зрительном нерве равна 160 \AA . Толщина каждого белкового слоя во всех периодах составляет 30 \AA . В общем аналогичную толщину имеют и чередующиеся электронно плотные слои на электронограммах миелина, причем в этом случае на препаратах, фиксированных четырехокисью осмия, поперечник периода достигает $120\text{—}140\text{ \AA}$. Проведенные подсчеты показали, что в ходе

фиксации и обезвоживании объем структур несколько уменьшается, чем и объясняются небольшие различия между результатами исследований с применением рентгеноструктурного анализа и электронной микроскопии (Fernández-Morán, Finean, 1957).

Согласно Robertson (1959), элементарная оболочка соответствует половине каждого периода миелина.

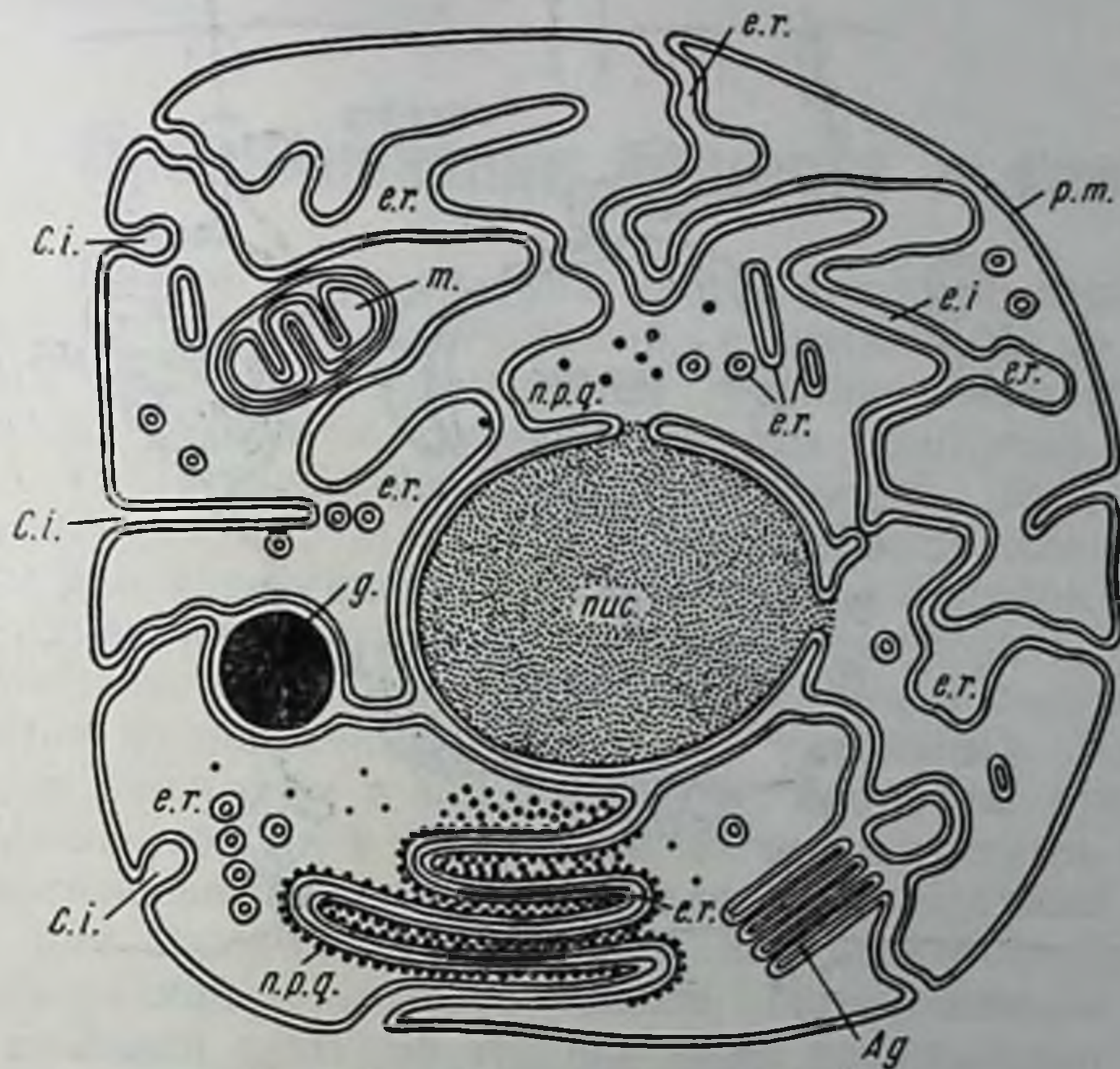


Рис. 56. Схема ультраструктуры клетки. Эндоплазматическая сеть свободно открывается на поверхность клетки (по Robertson, 1959).

ядро — ядро; *Ag* — аппарат Гольджи; *e.g.* — эндоплазматическая сеть; *m.* — митохондрии; *п.р.г.* — гранулы рибонуклеопротеида; *p.m.* — оболочка клетки; *c.i.* — впячивания оболочки; *g.* — отложения гликогена.

Представления о слоистом составе плазматической оболочки хорошо согласуются и с результатами изучения других ее производных — наружных члеников палочек и колбочек сетчатки. Так, электронномикроскопические исследования (Sjostrand, 1949; de Robertis, 1956; Fernández-Morán, 1958, и др.) однозначно установили, что каждый наружный членик палочки состоит из большого числа наслоенных друг на друга дисков, причем один диск образован двумя мембранами толщиной 30—40 Å. Они соединены друг с другом своими концами и ограничивают щелевидное пространство шириной около 30 Å. Наличие же в составе члеников чере-

дующихся белковых и липидных слоев было установлено еще ранее на основании поляризационно-микроскопических исследований интактной сетчатки и сетчатки после экстрагирования липидов.

Итак, совокупность приведенных данных позволяет считать установленным общий принцип морфологической и хи-

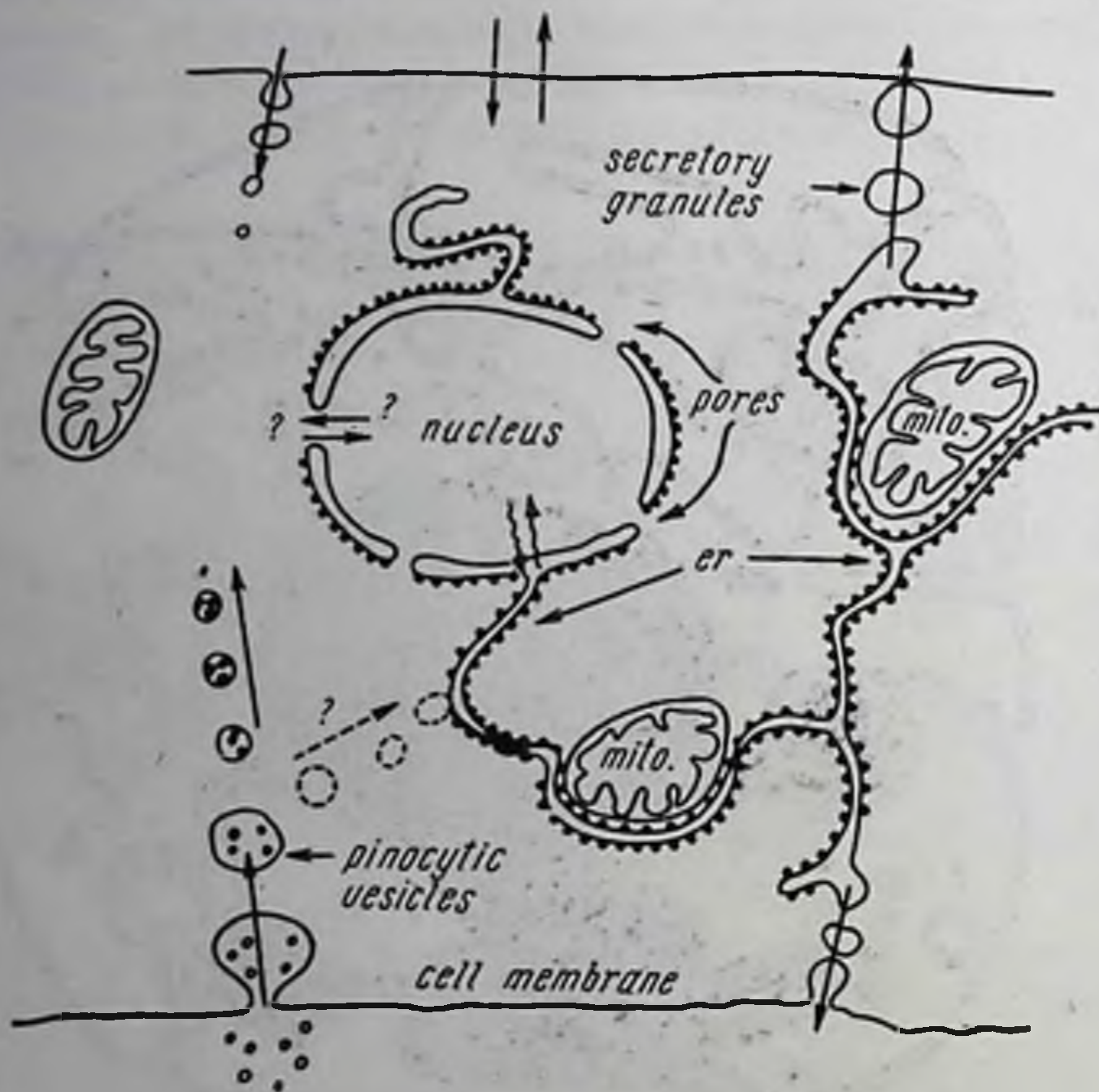


Рис. 57. Схема ультраструктуры клетки. Полости эндоплазматической сети замкнуты в цитоплазме и на поверхности клетки не открываются (по Siekewitz, 1959).

cell membrane — оболочка клетки; *nucleus* — ядро; *mito* — митохондрии; *er* — канальцы эргастоплазматической сети, стенки которых усеяны рибонуклеопротеидными глыбками; *pores* — отверстие в оболочке ядра; *pinocytic vesicles* — пиноцитозные пузырьки; *secretory granules* — гранулы секрета.

мической организации плазматических оболочек, состоящих из центрального бимолекулярного слоя липидов с наслоенными на них с обеих сторон молекулами белка.

Электронномикроскопические исследования показали вместе с тем тесную связь плазматической оболочки с эндоплазматической сетью (см. главу V). Согласно схеме Д. Робертсона (1959, 1963), плазматическая оболочка в ряде точек переходит в эндоплазматическую сеть и в этих местах целостность плазматической оболочки нарушена, полости эндоплазматической сети свободно открываются на поверх-

ность клетки (рис. 56). Согласно же P. Siekewitz (1959), плазматическая оболочка сплошная и открытых коммуникаций между полостями эндоплазматической сети и окружающей клетку средой нет. Однако в ряде точек плазматическая оболочка инвагинирована, что связано с формированием пиноцитозных пузырьков в ходе пиноцитоза (см. главу XII) (рис. 57). К обсуждению данных представлений мы вернемся ниже, при изложении материалов о проницаемости плазматической оболочки.

Проникновение веществ в клетки¹

Важность рассматриваемого вопроса определила огромное количество исследований, выполненных на разнообразных объектах с применением различных методов и методических приемов изучения. Анализ обширной литературы (А. С. Трошин, 1956; Н. Н. Никольский, 1965), позволяет заключить, что животные и растительные клетки проницаемы для всех минеральных катионов и анионов, причем концентрация калия, кальция, магния и фосфора в отличие от натрия и хлора в протоплазме выше, чем в окружающей среде. При уменьшении концентрации указанных ионов в среде они поступают в нее из клеток; напротив, при повышении концентрации в среде ионы поступают внутрь клеток.

Животные клетки проницаемы для разнообразных аминокислот, для аскорбиновой кислоты, ее дегидроформы, для пировиноградной и мочевой кислот. Интенсивность поглощения разными клетками тех или иных аминокислот, аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот неодинакова. Концентрация азота аминокислот и полипептидов, аскорбиновой кислоты (за исключением эритроцитов) и пировиноградной кислоты (в эритроцитах) больше, чем в плазме. Концентрация мочевой кислоты, напротив, меньше в эритроцитах и больше в других клетках тела, чем в окружающей их среде. Содержание в клетках аминокислот зависит от их концентрации в среде. При малых количествах в среде аминокислот их относительно больше в клетках. Наоборот, их в клетках меньше, чем в среде, если последняя содержит большие количества аминокислот.

Углеводы (моно-, ди- и полисахариды), мочевины, креатин, поверхностно-активные вещества и другие неэлектролиты проникают в различные клетки (животные и раститель-

¹ Мы не касаемся здесь проблемы проникновения в клетки разнообразных красителей, широко использованных в свое время для изучения клеточной проницаемости. Этот вопрос рассматривается в главе XIV.

ные). Концентрация многих неэлектролитов в клетке может быть выше, чем в среде, если последняя содержит небольшие количества этих веществ. Таким образом, поступление упомянутых веществ в клетки может происходить против градиента концентрации. В клетки быстро проникают одно- и двухатомные спирты; трех-, четырех- и пятиатомные — соответственно медленнее, а шестиатомные вообще не проникают.

Следует, однако, отметить, что о возможности проникновения в клетки некоторых из перечисленных веществ в литературе имеются более или менее противоречивые данные. Так, например, при помощи осмометрического способа исследования ряду авторов не удалось констатировать проникновения в эритроциты большинства животных пентоз, гексоз, ди- и полисахаридов. Противоположные результаты получены при использовании химического метода исследования, однако его применимость в данных целях оспаривалась. Следует, по-видимому, учитывать и некоторые видовые особенности проницаемости. Так, по данным В. А. Энгельгардта и А. И. Колотиловой (1936), глюкоза хорошо проникает в эритроциты человека, кролика и кошки, но практически не проникает в эритроциты свиньи. Скорость проникновения глюкозы в эритроциты человека и кролика различна. О неодинаковой проницаемости эритроцитов разных видов свидетельствует, в частности, неодинаковая скорость их гемолиза (табл. 11).

Таблица 11
Различия в скорости гемолиза эритроцитов разных видов
(по А. Гизе, 1959)

Животное	Скорость гемолиза в секундах	Животное	Скорость гемолиза в секундах
Крыса	3,5	Собака	253
Мышь	12,9	Свинья	340
Кролик	21,8	Кошка	459
Морская свинка	38,2	Вол	612
		Овца	850

Неодинакова и скорость проникновения одних и тех же веществ в разные клетки данного организма. Вне зависимости от этого несомненно, что клетки проницаемы для большого числа веществ, хотя скорость их проникновения внутрь клеток является различной. Так, например, по скорости проникновения в клетки ионы образуют следующий ряд: рубидий > калий > натрий > литий > магний > барий > стронций > кальций. Есть и ряд веществ, которые в клетки не проникают. Классическим примером такого ве-

щества служит водорастворимый краситель эозин, который неповрежденные клетки не окрашивает в отличие от поврежденных. Через плазматическую оболочку не проникают очень крупные молекулы таких углеводов, как крахмал, гликоген, инулин.

Проникновение веществ в клетки или из них иногда совершается в соответствии с диффузионными закономерностями в направлении от большей концентрации данного вещества к меньшей. Таким способом осуществляется, например, гемолиз эритроцитов в гипотонических растворах вследствие поступления воды в клетки из окружающей их среды до тех пор, пока не произойдет выравнивание концентраций. Путем простой диффузии, в соответствии с электрохимическим градиентом, в клетки может поступать не только вода, но и такие вещества, как мочевины, этиленгликоль и некоторые другие, имеющие молекулы сравнительно небольших размеров. Случай, когда вещество проникает в клетки в соответствии с диффузионными закономерностями, но замедленно, обозначается как ограниченная диффузия.

Однако в ряде случаев проникновение веществ в клетки или из них в окружающую среду совершается против градиента концентрации. Это явление, которое не может быть объяснено простыми закономерностями диффузии, уже давно получило название физиологической проницаемости. Примером ее может служить проникновение в клетки калия, магния, фосфора, хотя их концентрация в протоплазме выше, чем в окружающей среде. Распределение этих веществ между клетками и окружающей средой не ограничивается диффузионными закономерностями, поскольку в силу последних калий, магний, фосфор должны были бы распространяться в противоположном направлении.

Другим примером физиологической проницаемости служит поступление из клеток в окружающую среду натрия и хлора, что также осуществляется против концентрационного градиента (так называемый натриевый насос). Механизм этого явления рассматривается ниже.

Не менее существенно, что одна только растворимость тех или иных веществ в липидах не определяет их проникновения в клетки, так как в последние проникают вещества и нерастворимые в липидах (вода, мочевины и др.). Не получила достаточного экспериментального обоснования и теория ультрафильтрации, согласно которой, скорость проникновения вещества в клетки зависит от величины его молекул¹. Размер их может играть известную роль, ограничивая воз-

¹ Мы не касаемся здесь механизма проникновения в клетки взвесей и таких крупномолекулярных веществ, как белки. Этому вопросу посвящена глава XII (раздел о пиноцитозе).

возможности проникновения соответствующих веществ в клетки (см. выше о непроницаемости клеток для гликогена, крахмала, инулина). Однако ниже известного предела проникновение в клетки молекул и скорость этого процесса зачастую в большей мере определяются не размерами молекул, а коэффициентом распределения (т. е. отношением растворимости в масле к растворимости в воде) и другими факторами (А. Гизе, 1959).

Влияние различных факторов на проникновение веществ в клетки. Из числа факторов, влияющих на поступление в клетки веществ, несомненно имеет значение температура; с ее повышением коэффициент (Q_{10})¹ скорости поглощения клетками веществ из среды повышается. Так, в эритроциты кролика при 37° проникает радиоактивного фосфора в 10—20 раз больше, чем при 0°. Согласно Г. Е. Владимирову, И. П. Ашмарину и А. П. Уринсону (1953), значительные количества P^{32} неорганического фосфата проникают при 37° в эритроциты и в них происходит быстрый обмен лабильного фосфата аденозинфосфорной кислоты и фосфата фосфолипидной кислоты. При понижении температуры темп этих реакций резко замедляется. Поглощение клетками калия, аминокислот, сахаров и ряда других веществ усиливается при повышении температуры. При этом особенно существенно то, что Q_{10} проницаемости клетки значительно выше, чем Q_{10} диффузионных процессов, т. е. при повышении температуры проникновение в клетки соответствующих веществ возрастает в большей мере, чем скорость диффузионного процесса. Причину этого различия усматривают в том, что при изменении температуры существенно изменяется активность соответствующих внутриклеточных энзимов, а как следствие этого наблюдаются и значительные изменения Q_{10} проницаемости клетки.

Наблюдается также значительное ослабление проникновения радиоактивного фосфата в эритроциты при анаэробии, при добавлении к среде цианистого калия, фтористого натрия, азиды натрия и ряда других ингибиторов ферментативных реакций. Проницаемость эритроцитов человека для глицерина и ряда других веществ сильно угнетается наркотиками. Их воздействие полностью блокирует проникновение натрия в эритроциты кошки. С применением радиоактивных изотопов показано также, что использование клетками ряда аминокислот (глицин, аланин, лейцин, лизин и др.), связанное с изменением проницаемости клеток для этих веществ, тормозится при недостатке в среде кислорода, в присутствии

¹ Температурный коэффициент (Q_{10}) характеризует отношение скоростей реакций при данной температуре и при температуре на 10° выше.

азиды натрия, динитрофенола, цианидов, мышьяковистых соединений и др. При недостатке в среде кислорода или глюкозы усиливается выход из клеток калия, взамен которого в клетки поступает натрий; при добавлении же к среде глюкозы в аэробных условиях соотношение между поступлением в клетки калия и выходом из них натрия нормализуется. В физиологических условиях вода перемещается через слизистую оболочку желудка амфибий в направлении от изотонического раствора к гипотоническому до тех пор, пока жизнедеятельность клеток не нарушена под влиянием цианидов. Интенсивность поступления в клетки глютаминовой кислоты непосредственно зависит от содержания в среде глюкозы. При ее внесении в среду проникновение глютаминовой кислоты в клетки резко возрастает благодаря утилизации клетками энергии, освобождающейся при распаде глюкозы.

Совокупность большого числа аналогичных наблюдений несомненно свидетельствует об определенной зависимости проницаемости клетки от уровня совершающихся в ней обменных процессов. С этим согласуются и данные многочисленных опытов о влиянии изменения функционального состояния органов на утилизацию соответствующими клетками тех или иных веществ.

Если данное заключение, имеющее принципиально важное значение, не вызывает сомнений, то вопрос о механизме клеточной проницаемости составляет предмет дискуссии сторонников мембранной и сорбционной теорий.

Мембранная теория клеточной проницаемости. Эта теория зародилась на рубеже XIX и XX веков, когда Overton (1899) впервые выдвинул липидную теорию клеточной проницаемости, предположив, что на поверхности клеток должна находиться мембрана, состоящая из липидов. На протяжении последующих лет мембранная теория клеточной проницаемости подверглась интенсивной разработке, ряд ранее высказанных предположений не подтвердился, зато появились новые наблюдения, потребовавшие существенного дополнения и пересмотра некоторых положений данной теории. Так как многие из этих положений представляют в настоящее время лишь исторический интерес, то мы на них не будем останавливаться. Отметим лишь, что в основе указанной теории лежит представление, что протоплазма клетки представляет такой коллоид, в котором почти вся вода находится в свободном состоянии и обладает такими же свойствами растворителя, как вода окружающей клетки среды. Поэтому особенности распределения веществ между клеткой и средой обусловлены свойствами самой клеточной (плазматической) оболочки.

Современные представления сторонников мембранной теории базируются на изложенных выше представлениях о липопротеидной природе плазматической оболочки. В связи с ее проницаемостью для веществ, нерастворимых в липидах, еще в 30-х годах нашего столетия было высказано предположение о существовании в клеточной оболочке пор. В дальнейшем на основании изучения проницаемости различных клеток (эритроциты и др.) для нерастворимых в липидах, но растворимых в воде неэлектролитов был подсчитан вероятный размер этих пор. Предполагают, что их радиус в разных клетках примерно одинаковый и равен около 4 Å (Solomon, 1961).

Представления о порах в плазматической оболочке претерпели за последние 40—50 лет существенные изменения. Согласно теории ультрафильтрата, развитой в начале текущего века, поры представляют открытые коммуникации, причем в клетку проникают лишь вещества, диаметр молекул которых меньше диаметра пор. Последующее развитие этой концепции привело к представлению, что поры плазматической оболочки не являются постоянно функционирующими (открытыми).

Согласно Davson, Danielli (1943), Д. Л. Рубинштейну (1947) и др., преформированных пор в плазматической оболочке нет. Они возникают под влиянием проникающих в клетку веществ, которые раздвигают молекулы липидов оболочки, т. е. образуются временные поры.

Несколько позднее на основании изучения оболочек эритроцитов было высказано предположение, что внутри пор расположены молекулы липидов, неодинаково прочно связанные с белком. Молекулы липидов могут перемещаться, и в результате этого поры то открываются, то закрываются. Предполагали и существование ионообмена через плазматическую оболочку благодаря наличию пор с положительными или отрицательными зарядами. Положительно заряженные поры притягивают анионы, но отталкивают катионы, отрицательно заряженные оказывают противоположное действие. Заряд пор зависит от преобладания аминогрупп (+) или других основных групп и карбоксильных групп (—), прилегающих к порам аминокислот.

Однако изложенные представления о порах в плазматической оболочке с трудом согласуются с приведенными выше данными о зависимости проницаемости клеток от уровня совершающихся в них обменных процессов, о значении ферментативных систем для поступления веществ в клетки. Охарактеризованные представления могут объяснить лишь некоторые наблюдения по изучению клеточной проницаемости, но они не создают необходимых общих основ.

Поэтому в настоящее время более обоснованным является воззрение о наличии в плазматической оболочке специальных участков, которые с химической и физико-химической точки зрения могут в какой-то мере рассматриваться в качестве аналогов пор в том смысле, что именно через них в клетку проникают вещества, нерастворимые в липидах. Учитывая изложенные выше данные о зависимости проницаемости клеток от рН и температуры среды, о влиянии на проницаемость ингибиторов энзиматических процессов и о значении энергетического обеспечения поступления в клетки веществ, сторонники данной теории предполагают наличие в оболочке соответствующих энзимов, контролирующих поступление веществ в клетки или выход из них. Согласно представлениям Davson (1962), вещество пор, вероятно, обладает многими свойствами энзимов. Допускается наличие в оболочке особых энзимов — пермеаз, которые образуют комплекс с проникающими в клетку веществами, способствуя их поступлению в плазматическую оболочку. Затем пермеазы отщепляются от проникающего в клетку вещества, что осуществляется в пределах оболочки (возможно, на ее внутренней поверхности) или внутри клетки.

Большое внимание было уделено поискам в плазматической оболочке и других ферментов. Из числа их в оболочке эритроцитов выявлены некоторые протеолитические ферменты (при биохимическом исследовании), холинэстераза и нуклеозидфосфатазы. Однако гидролизующая способность этих фосфатаз в оболочке разных клеток неодинакова. Так, например, в оболочке эндотелиальных клеток большого числа капилляров они гидролизуют различные нуклеозидфосфаты, а в оболочке эпителия почечных канальцев только нуклеозидтрифосфаты (Goldfischer, Essner, Novikoff, 1964). Активность аденозинтрифосфатаз (АТФ-аз) и 5-нуклеотидазы в оболочке почечных клеток более высока в области микроворсинок и желчных капилляров. Последнее интерпретируется как свидетельство преимущественной локализации указанных энзимов в зонах оболочки, активно участвующих во всасывании и секреции (см. ниже). АТФ-аза обнаружена также в оболочке эпителия мальпигиевых телец почек, в микроворсинках эпителия кишечника. АТФ-азу плазматической оболочки рассматривают как часть ферментативной системы активного переноса через оболочку натрия и калия (см. выше о физиологической проницаемости). Предполагают также, что поступление в клетки аминокислот происходит при участии пиридоксальных ферментов.

Биохимически в изолированной плазматической оболочке печеночных клеток выявлены арилэстераза, НАДН₂-цитохром-с-редуктаза, кислая и щелочная фосфоэстеразы,

фосфодиэстераза, рибонуклеаза, глюкозо-6-фосфатаза, НАД-пирофосфатаза, Mg_2 -АТФ-аза, 5'-моонуклеотидаза (Emelot и др., 1964).

Вместе с тем допускают, что проникающие в клетки вещества претерпевают в оболочке определенные изменения и лишь после этого они поступают в цитоплазму. Так, например, сахара, глицерин и анион фосфорной кислоты вначале включаются в состав фосфорных эфиров (гексозофосфатов, глицерофосфатов и др.); последние же проникают в цитоплазму, участвуя в дальнейшем в ее метаболизме.

Согласно Danielli (1962), в общей форме это может быть выражено следующим уравнением: $S_1 \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons S_2$, где S_1 — вещество, располагающееся снаружи от плазматической оболочки, E — находящийся в оболочке фермент, образующий комплекс с проникающим в клетку веществом. Последнее модифицируется в ходе образования комплекса с ферментом, в силу чего оно уже не первоначальное вещество S_1 , а вещество S . Отделившееся от комплекса и проникающее в цитоплазму вещество (S_2) отличается как от вещества S_1 , так и от вещества S . Из числа таких ферментов определенную роль в механизме перемещения в клетки натрия приписывают диглицеридкиназе и фосфатазе фосфолипидной кислоты. В частности, предполагают, что поступление натрия из клеток так называемой солевой железы осуществляется следующим образом: на внутренней поверхности плазматической оболочки диглицеридкиназа катализирует образование фосфатидов из АТФ и диглицеридов. Два иона натрия в сочетании с фосфатидами образуют двузамещенный фосфатид натрия. Он проникает через оболочку и на ее наружной поверхности гидролизуется фосфатазой фосфолипидной кислоты. Натрий поступает в просвет протоков железы, диглицериды и фосфаты возвращаются в цитоплазму.

Представления о локализации ферментативных процессов в плазматической оболочке заслуживают серьезного внимания. Однако изложенные выше данные о нахождении ряда ферментов именно в оболочке клеток пока нельзя признать достаточными, чтобы на их основании делать какие-либо выводы общего порядка. В этом отношении нужны дополнительные наблюдения, для получения которых весьма существенны комбинированные гистохимические и электронно-микроскопические исследования. Некоторым же косвенным подтверждением изложенного представления служат данные, приведенные в предшествующих главах, о локализации ферментов в других мембранных структурах клетки и, в частности, в мембранах митохондрий. Таким образом, самый факт возможности избирательного расположения ферментов в определенных мембранах клетки не вызывает сомнений.

Имея в виду это, вряд ли можно недооценивать значимость приведенных выше материалов о ферментах плазматической оболочки.

Более гипотетическим является мнение, что в плазматической оболочке происходят метаболические реакции, обеспечивающие необходимый уровень энергетических процессов для активного транспорта веществ через оболочку. Davson (1962) предполагает это на основании результатов следующих опытов. Если после обработки фтористыми соединениями, угнетающими гликолиз, который обеспечивает энергией эритроциты, воздействовать на последние кальцием, то наступает гемолиз. Причины его усматривают в том, что фториды прочно удерживаются оболочкой. Попытка их удаления из оболочки путем обработки кальцием, делающим фториды нерастворимыми, приводит к нарушению целостности оболочки, а в результате к гемолизу. Это расценивается как свидетельство того, что гликолиз ингибируется ионами, по видимому, находящимися в плазматической оболочке. Поэтому следует допустить, что и энзимы, связанные с гликолизом, также находятся в ней.

Учитывая все изложенное, следует вернуться к вопросу о взаимоотношениях плазматической оболочки с эндоплазматической сетью, мембраны которой, согласно широко распространенному мнению, составляют непосредственное продолжение плазматической оболочки. Как уже отмечено, в таких участках [см. приведенную выше схему Д. Робертсона (1959, 1963)] имеются непосредственные сообщения полостей эндоплазматической сети с окружающей клетки средой. Однако еще не выяснено, имеются ли здесь истинные отверстия, а в случае положительного ответа на данный вопрос — являются ли эти коммуникации перманентно или эпизодически функционирующими. Выяснение этих вопросов имеет несомненное значение для дальнейшего развития мембранной теории. Пока же недостаточно ясно, как согласуются ее основные положения о высокой степени дифференциации плазматической оболочки в качестве основного структурного компонента, определяющего проницаемость клеток, с наличием на их поверхности коммуникаций, через которые вещества могут, казалось бы, поступать в клетку в обход ее оболочки.

Не следует, конечно, игнорировать то обстоятельство, что полости эндоплазматической сети выстланы мембранами, ультраструктурно не отличающимися от плазматической оболочки. Поэтому следует допустить, что если какая-то часть веществ может с поверхности клетки непосредственно проникать в полости эндоплазматической сети, то ограничивающие ее мембраны должны по отношению этих веществ

выполнять такую же функцию, как и плазматическая оболочка. Тем не менее обращает на себя внимание, что в клетках, через которые интенсивно происходит транспорт веществ, особенно в направлении, противоположном концентрационному градиенту, наблюдается специальная дифференциация именно плазматической оболочки с образованием описываемого ниже базального лабиринта. Возникает и ряд других предположений, на которых мы не останавливаемся в силу чисто умозрительного их характера.

Отметим лишь, что, по мнению А. Л. Шабаша (1961), барьерным механизмом клетки следует считать не только плазматическую оболочку, но весь комплекс мембран, находящихся в цитоплазме клетки (мембраны эндоплазматической сети, аппарата Гольджи, митохондрий), образующих единое целое с клеточной оболочкой. К этой системе следует, по-видимому, отнести и наружный листок ядерной оболочки.

Из числа многих аргументов, приводимых в защиту мембранной теории клеточной проницаемости, приведем в заключение лишь один: уже давно установлено, что эозин в водном растворе практически не проникает в клетки и их не окрашивает. Если же инъецировать раствор эозина непосредственно в цитоплазму, то последняя интенсивно прокрашивается, причем из клетки эозин практически не проникает в окружающую среду. Непроницаемость в клетки эозина из окружающей среды, как и отсутствие его поступления в обратном направлении, легко объяснить, исходя из представления о барьерной функции плазматической оболочки. Однако эти же наблюдения находят иное объяснение с точки зрения сторонников сорбционной теории клеточной проницаемости.

В дальнейшем изучении нуждается и вопрос о местных особенностях проницаемости плазматической оболочки различных клеток. В этом отношении известный интерес представляют данные, полученные на слюнных железах дрозофил. С помощью микроэлектродов было показано, что сопротивление плазматической оболочки электрическому току на контактирующих поверхностях соседних клеток невелико и мало отличается от такового самой цитоплазмы. Напротив, сопротивление току на апикальной поверхности гораздо выше. Опыты с флюоресцентным подтвердили, что движение веществ от клетки к клетке осуществляется легче, чем из клетки в окружающую среду (Loewenstein, Каппо, 1964). Физиологический смысл указанных различий проницаемости пока не ясен, но примененная методика, по-видимому, перспективна.

В последнее время появились указания на связь плазматической оболочки с выявляемыми после фиксации глюта-

ральдегидом цитоплазматическими микротрубочками. Допускают, что последние открываются на поверхности плазматической оболочки, в силу чего микротрубочкам, помимо опорной и сократительной функции, приписывают также участие в транспорте веществ внутрь клеток или из них в окружающую среду (Sandbogn, Koen, McNabb, 1964). Однако первые наблюдения не дают пока оснований для столь далеко идущих выводов. Этот вопрос нуждается в специальном изучении с использованием не только морфологических методов исследований, но и необходимых приемов экспериментального изучения.

Сорбционная теория клеточной проницаемости. Сорбционная теория клеточной проницаемости, в разработке которой видное участие принял Д. Н. Насонов и его школа (Д. Н. Насонов и В. Я. Александров, 1940, 1943; Д. Н. Насонов, 1959; А. С. Трошин, 1956, 1961, и др.), отводит решающую роль в явлениях клеточной проницаемости всей массе живого вещества клетки. Это вещество, согласно данной теории, не представляет простого раствора органических и минеральных веществ в воде, а является особого рода жидкостью, дисперсионная среда которой по отношению к окружающему водному раствору ведет себя, как фаза. Различная проницаемость клеток для тех или иных веществ обусловлена не большей или меньшей проходимость их плазматической оболочки, а различием в растворимости веществ в протоплазме и в окружающей их среде. Имеют значение также особенности адсорбционного или химического связывания клеточными коллоидами веществ, проникающих в клетки. Все три явления — растворимость, адсорбция и химическое взаимодействие — объединяются термином «сорбция», что и определяет название данной теории. Сорбционный уровень белков цитоплазмы зависит при этом от ее физиологического состояния и изменяется при изменении метаболических процессов в клетке.

Сорбционная активность протоплазмы сохраняется на определенном уровне. Она изменяется при нарушении обмена веществ в условиях анаэробнозиса, под действием ингибиторов обменных реакций, когда растворимость веществ в протоплазме повышается, связывание же коллоидами протоплазмы понижается (калий) или, напротив, повышается (натрий). В результате происходит отмеченное выше перераспределение веществ между клеткой и средой. Вследствие этого проницаемость клетки для натрия, хлора и некоторых других веществ повышается, а для калия, фосфата и др. уменьшается. Скорость проникновения веществ в клетку и распределение их между клеткой и средой определяются скоростью ферментативного процесса непосредственно или

благодаря тому, что обмен веществ поддерживает на определенном уровне сорбционную способность живого вещества.

Как следует из изложенного, данные, приведенные в разделе «Влияние различных факторов на проникновение веществ в клетки» (стр. 178), в полной мере учитываются сторонниками данной концепции и с ней хорошо согласуются. Однако на основании этой теории нельзя считать, что ферментативные процессы, влияющие на проницаемость клеток, локализованы именно в клеточной оболочке, как это утверждают сторонники мембранной теории клеточной проницаемости.

Характеризуя сорбционную теорию клеточной проницаемости, А. С. Трошин (1956) отмечает, что «...сам термин „проницаемость“ уже не отражает сущности рассматриваемого свойства клеток. Этим термином сторонники мембранной теории обозначают способность определенной преграды, барьера, отделяющего якобы содержимое клетки от окружающей среды, пропускать через себя те или иные вещества, тогда как сторонники сорбционной теории под термином „проницаемость“ имеют в виду способность всего содержимого клетки поглощать те или иные вещества из окружающей среды и выделять их наружу (сюда не относится секреторная деятельность клеток, которая должна рассматриваться особо). Вследствие этого явление, получившее название „проницаемость клеток“, лучше было бы именовать как „сорбционная активность клеток“. Но термин „проницаемость“ глубоко укоренился в физиологии, стал привычным для большинства биологов, в силу чего этот термин целесообразно сохранить, вкладывая в него, однако, иной смысл».

Отдавая должное сорбционной теории и обоснованности ряда ее положений, нельзя вместе с тем не отметить, что с точки зрения данной теории не находит удовлетворительного объяснения вопрос о функциональной значимости плазматической оболочки как реального ультраструктурного компонента клетки. В известной мере это, по-видимому, объясняется тем, что основные положения сорбционной теории клеточной проницаемости были сформулированы еще в конце 30-х годов, т. е. сравнительно задолго до появления соответствующих электронномикроскопических наблюдений над плазматической оболочкой. В последнее время наметилось некоторое сближение обеих рассматриваемых теорий, так как сторонники сорбционной теории пришли к выводу о существовании на границе клеточной протоплазмы и среды третьей фазы, обладающей свойствами диффузионного барьера, но не селективного (Н. Н. Никольский, 1965). Однако наличие двух теорий клеточной проницаемости сви-

детельствует о нерешенности данного вопроса. К нему мы вернемся ниже. Вне зависимости от этого нельзя не отметить существенного прогресса наших знаний, достигнутых в последнее время о плазматической оболочке, реальное существование которой установлено сравнительно недавно.

Электронномикроскопические данные позволили вместе с тем сделать важный вывод о значительной динамичности плазматической оболочки в ходе процессов фагоцитоза и

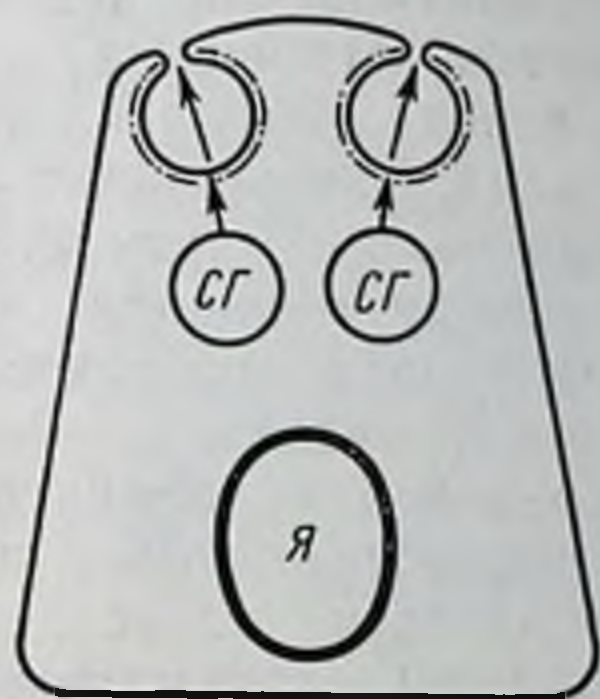


Рис. 58. Включение в состав плазматической оболочки очерченных штрих-пунктирной линией мембран 2 секреторных гранул.

СГ — секреторная гранула;
Я — ядро.

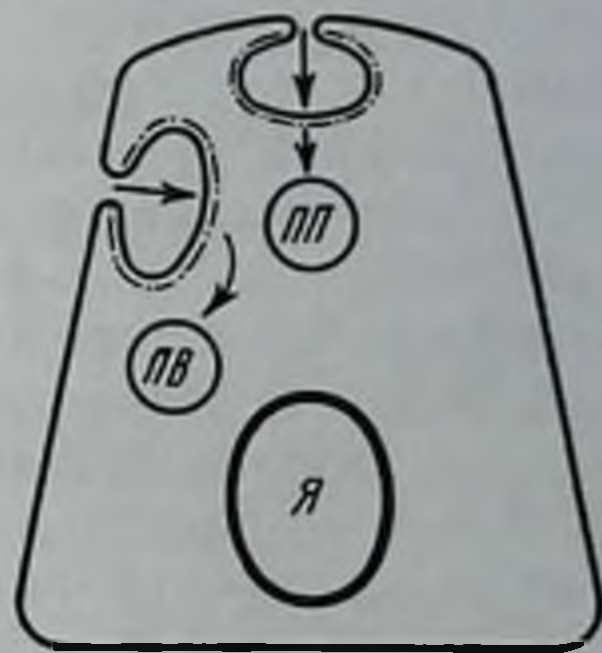


Рис. 59. Убыль вещества плазматической оболочки вследствие отшнуровки от нее очерченных штрих-пунктирной линией участков, отграничивающих пиноцитозный пузырек и пищеварительную вакуоль.

ПП — пиноцитозный пузырек;
ПВ — пищеварительная вакуоль; Я — ядро.

пиноцитоза (см. главу XII), а также при секреторном процессе. При фагоцитозе и пиноцитозе поглощаемое вещество поступает в цитоплазму, будучи окружено участком клеточной оболочки. Последний по мере продвижения в глубь поглощенного вещества отделяется от основной части оболочки, остающейся на поверхности клетки (рис. 58). Целостность последней затем восстанавливается, и есть веские основания считать, что убыль вещества оболочки в ходе данного процесса пополняется.

При секреторном процессе наблюдается иное явление, хорошо прослеженное на примере клеток экзокринных отделов поджелудочной железы. Как отмечено в главе IV, окончательное формирование зимогенных гранул происходит в пузырьках комплекса Гольджи. Затем гранулы перемещаются в направлении апикальной цитоплазмы, окруженные

мембраной пузырька Гольджи. Еще позднее такая гранула все более приближается к соответствующему участку плазматической оболочки апикальной поверхности клетки и смыкается с ним. При выходе пищеварительных ферментов из гранул их оболочка из клетки не выделяется, она остается в цитоплазме и в дальнейшем входит в состав плазматической оболочки (рис. 59).

Изложенные данные подчеркивают ограниченность старого взгляда, согласно которому, плазматическая оболочка представляет инертную в биологическом отношении липопротеидную пленку, проникновение через которую якобы определяется растворимостью в липидах, электрическим зарядом или молекулярным весом проникающих веществ.

В действительности же плазматическая оболочка является лабильной, динамичной структурой, выполняющей важную для жизнедеятельности клеток функцию.

Электронномикроскопические исследования значительно обогатили наши представления и о рассматриваемых ниже специализированных структурах поверхности клеток, связанных со специальной дифференциацией плазматической оболочки.

Специализированные структуры поверхности клетки

Ввиду разнообразия этих структур их, согласно Fawcett (1961, 1962), целесообразно подразделять на 3 основные категории в зависимости от особенностей локализации: на свободной поверхности клетки, на контактирующих поверхностях соседних клеток или в основании последних.

Специализированные структуры свободной поверхности. На свободных поверхностях разнообразных клеток электронномикроскопически выявляются так называемые микроворсинки, обычно имеющие вид мелких выростов различной длины, расположенных произвольно и в варьирующем количестве. Диаметр микроворсинок от 500 до 1000 Å, их длина до 2—3 μ.

Однако на свободной (апикальной) поверхности эпителиальных клеток тонкого кишечника микроворсинки располагаются упорядоченно, параллельно и на небольшом расстоянии (~200 Å) друг от друга, так что число их на поверхности одной клетки может достигать 2000. В совокупности микроворсинки образуют кутикулу (рис. 60). На поверхности покровного эпителия кишечника она уже давно была обнаружена светооптически при обычных методах из-

готовления препаратов. По аналогии с ворсинками, резко увеличивающими резорбирующую поверхность слизистой оболочки, такую же функцию приписывают и микроворсинкам кутикулы.

Было установлено также, что кутикула обладает высокой активностью щелочной фосфатазы, а также инвертаз и мальтаз. Наличие последних выявлено при биохимическом

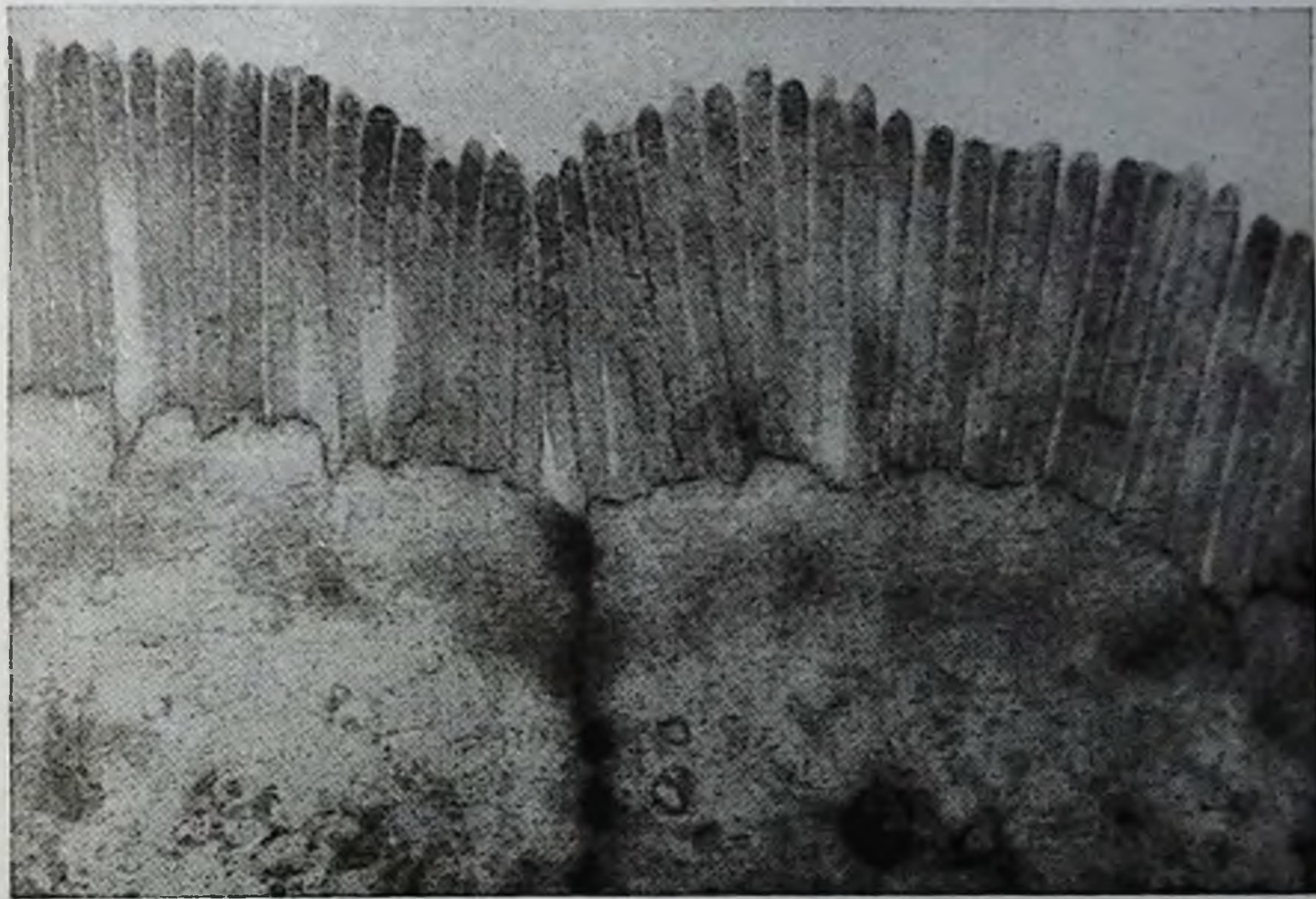


Рис. 60. Ультраструктура кутикулы кишечного эпителия. Продольное сечение. Увеличение $\times 180\,000$ (по Fawcett, 1962).

изучении кутикулы, изолированной с помощью специальных приемов центрифугирования (Miller, Crane, 1961).

Учитывая наличие в кутикуле по крайней мере указанных энзимов (а возможно, и некоторых других), следует считать, что физиологическое значение образующих ее микроворсинок не ограничивается только увеличением резорбирующей поверхности. По-видимому, они играют более активную роль в резорбирующей деятельности своими ферментами, участвующими в переваривании подлежащих всасыванию веществ.

Щеточная кайма, светооптически обнаруженная на свободной, обращенной в просвет поверхности эпителия проксимальных отделов извитых канальцев почки, также обладающего выраженной всасывающей способностью, подобно

кутикуле, состоит из микроворсинок. Однако в отличие от кишечных между микроворсинками щеточной каймы располагается гомогенное межклеточное вещество со значительной электронной плотностью (рис. 61). Помимо того, в участках между основанием соседних микроворсинок клеточная оболочка инвагинируется, образуя подобие каналь-

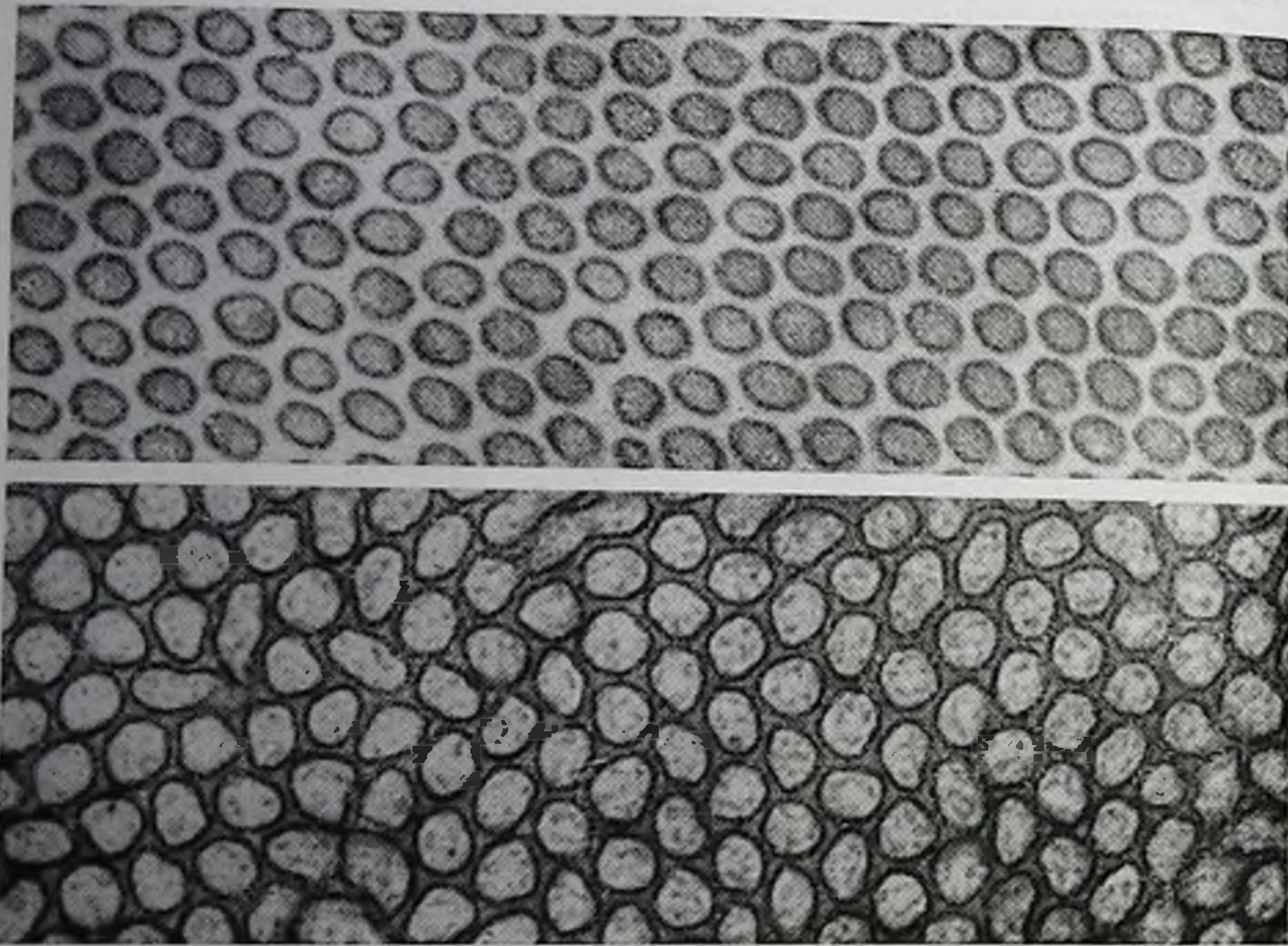


Рис. 61. Ультраструктура кутикулы (вверху) и щеточной каймы (внизу) в поперечном сечении. Микроворсинки щеточной каймы отделены электронноплотным веществом. Увеличение $\times 180\,000$ (по Fawcett, 1962).

цев, вдающихся в цитоплазму. Стенки этих канальцев несколько толще, чем сама плазматическая оболочка. Таким образом, в пределах щеточной каймы увеличение всасывающей поверхности достигается особенно значительно благодаря наличию чередующихся микроворсинок и канальцев. Аналогичная щеточная кайма обнаружена на поверхности клеток висцерального листка желточного мешка и *ductuli efferentes rete testis* лабораторных животных.

Специализированные структуры контактирующих поверхностей. Согласно результатам электронномикроскопических исследований, промежутки между соседними клетками, входящими в состав клеточного пласта (например, между клетками высокого призматического эпителия), в большин-

стве случаев (исключая более широкие промежутки между клетками базального и зернистого слоев многослойного плоского эпителия) имеют ширину всего 100—150 Å, т. е. являются значительно более узкими, чем это предполагали на основании светооптических исследований. В межклеточных промежутках выявлено гомогенное вещество с небольшой

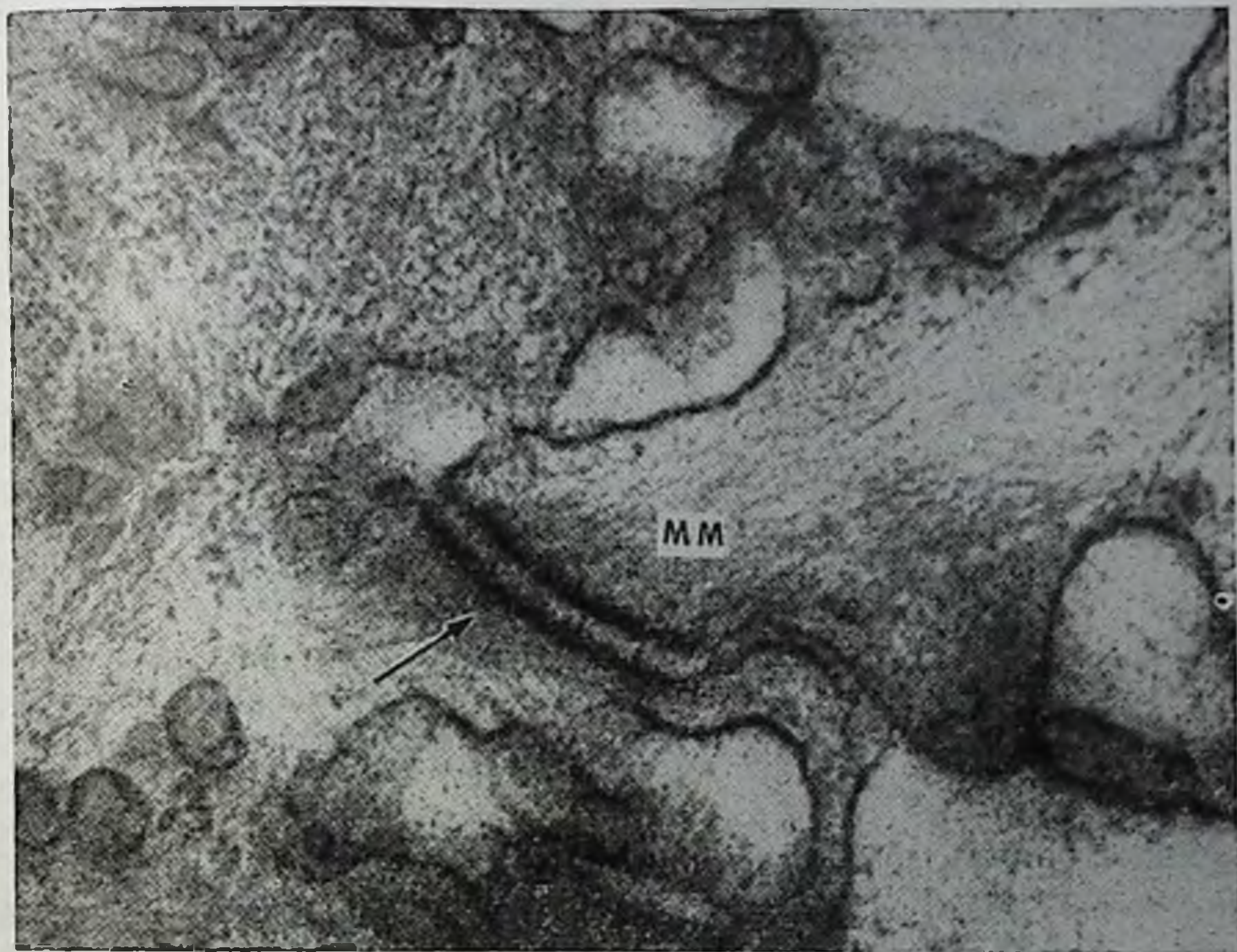


Рис. 62. Десмосома (отмечена стрелкой) в краевой части межклеточного мостика (ММ) (по Fawcett, 1962).

электронной плотностью. Значение этого вещества и его идентификация с межклеточным цементом остаются весьма опорными.

Классическая цитология приписывала важную роль в соединении клеток пластов друг с другом так называемым межклеточным мостикам (десмосомы), которые, как считали установленным, непосредственно соединяют соседние клетки. Не вызывало сомнения и непосредственное проникновение из одних клеток в другие по межклеточным мостикам особых волокнистых структур — так называемых тонофибрилл.

Согласно данным электронной микроскопии, обращенные друг к другу поверхности соседних клеток зачастую оказы-

ваются неровными вследствие наличия более или менее выступающих участков (выступов) различной формы. Два противоположащих выступа, из которых один принадлежит одной клетке, а другой — соседней с ней, разделены щелевидным промежутком. При световой микроскопии он не виден и вследствие этого создавалось ошибочное представление о наличии как бы сплошного тяжика — межклеточного мостика, соединяющего обе клетки. В действительности же

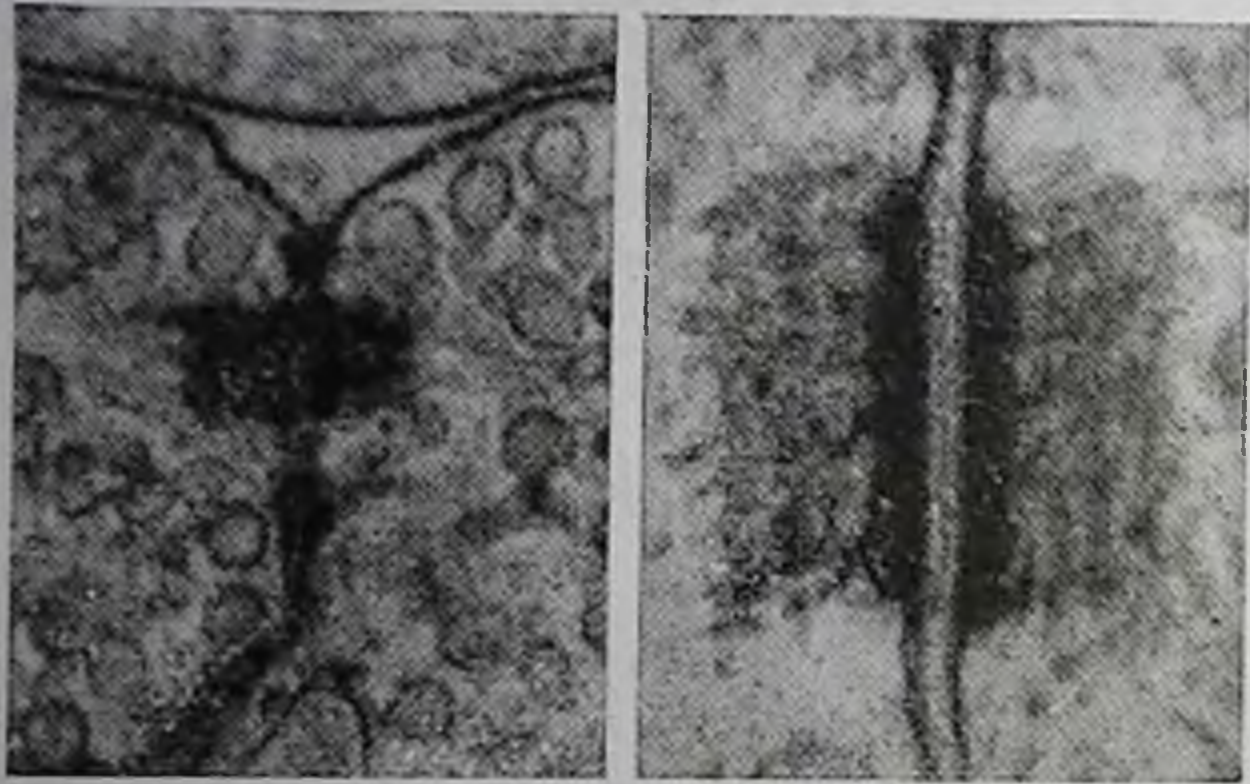


Рис. 63. Ультраструктура десмосомы.
Слева — при небольшом увеличении ($\times 24\ 000$), справа — при большом увеличении ($\times 98\ 000$).

межклеточный мостик не сплошной, он образован разделенными выступами соседних клеток. На обращенных друг к другу краях выступов электронномикроскопически видны особые структуры, представляющие половинки так называемых десмосом. Одна из половинок образована краевой частью выступа одной клетки, другая половинка — противоположащим выступом соседней (рис. 62).

Строение каждой половинки десмосомы следующее (рис. 63). Наружная ее часть, ограничивающая с одной стороны щелевидный промежуток, является электронноплотной, гомогенной и, возможно, представляет собой утолщение плазматической оболочки. Изнутри прилежит более широкая и электронно менее плотная часть данной половинки десмосомы, образованная сетью фибрилл, тянущихся параллельно и перпендикулярно поверхности клетки. Если в клетках имеются тонофибриллы, то они проникают в половинки десмосом, но из одной половинки в другую через щелевидный промежуток не распространяются. Таким образом, в пределах десмосом нет каких-либо структур, которые механически соединяли бы обе половинки каждой десмосомы.

Они остаются морфологически обособленными. Тем не менее в местах расположения десмосом клетки прочнее связаны друг с другом. Об этом можно судить на основании того факта, что при растяжении пласта клетки меньше расходятся в местах, где имеются десмосомы. Однако причина данного обстоятельства пока не выяснена. Не исключено, что это в какой-то мере связано с наличием между половинками десмосом электронно плотного вещества.

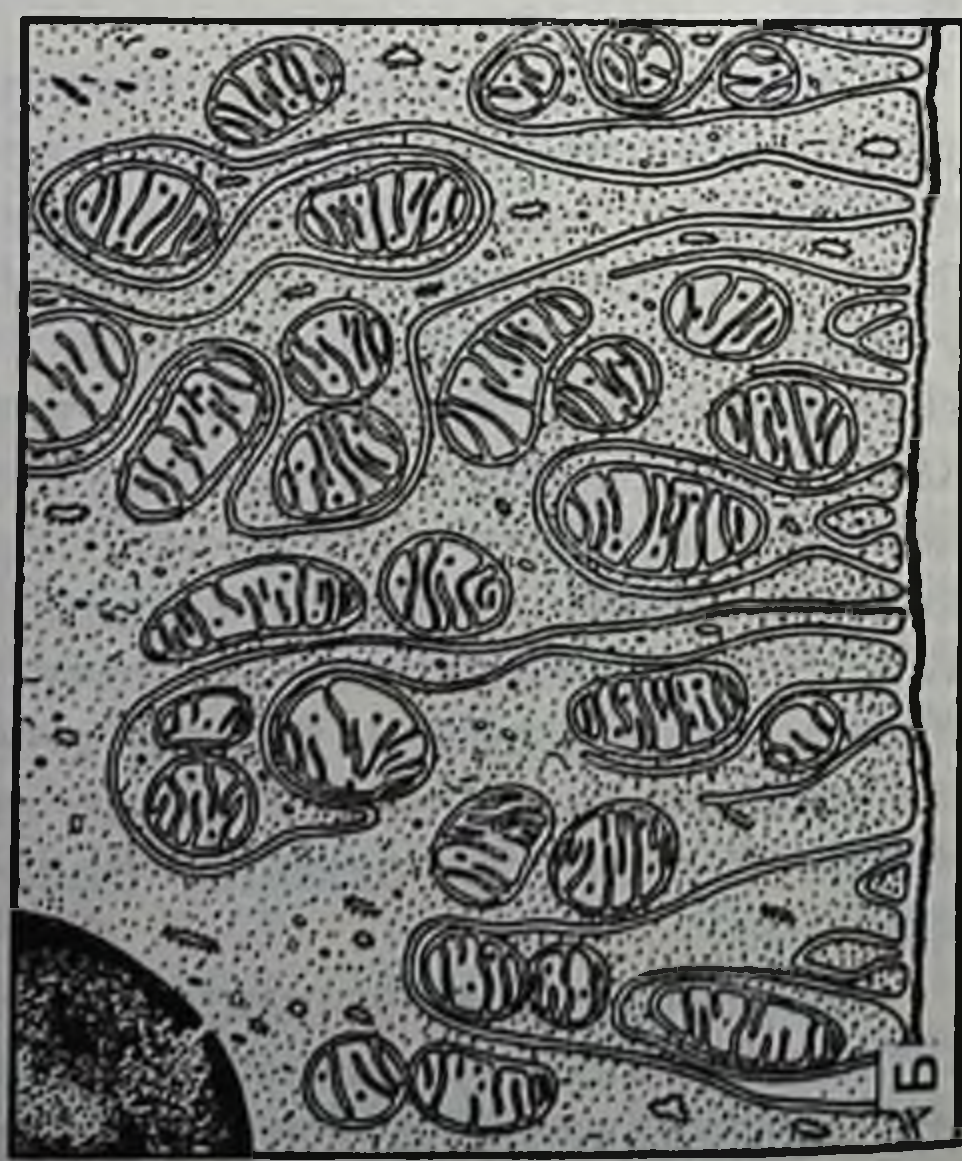
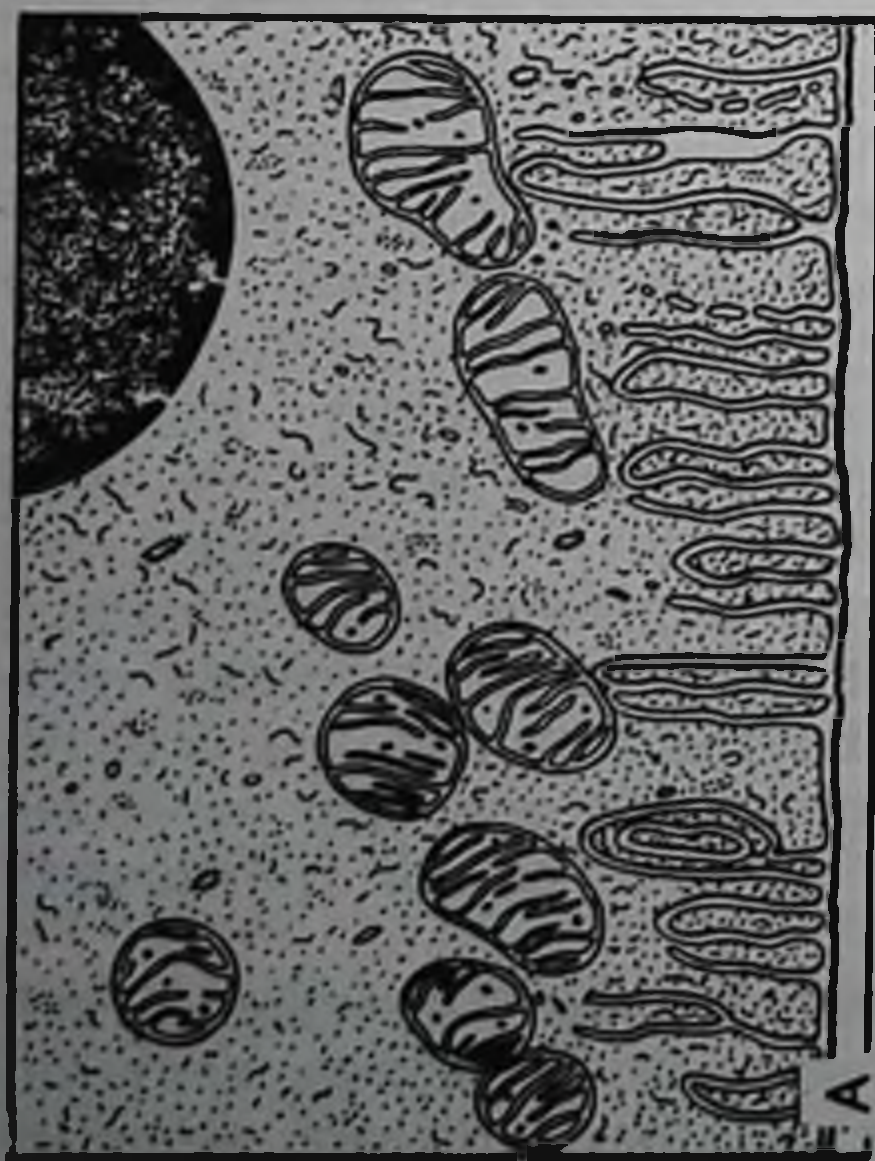
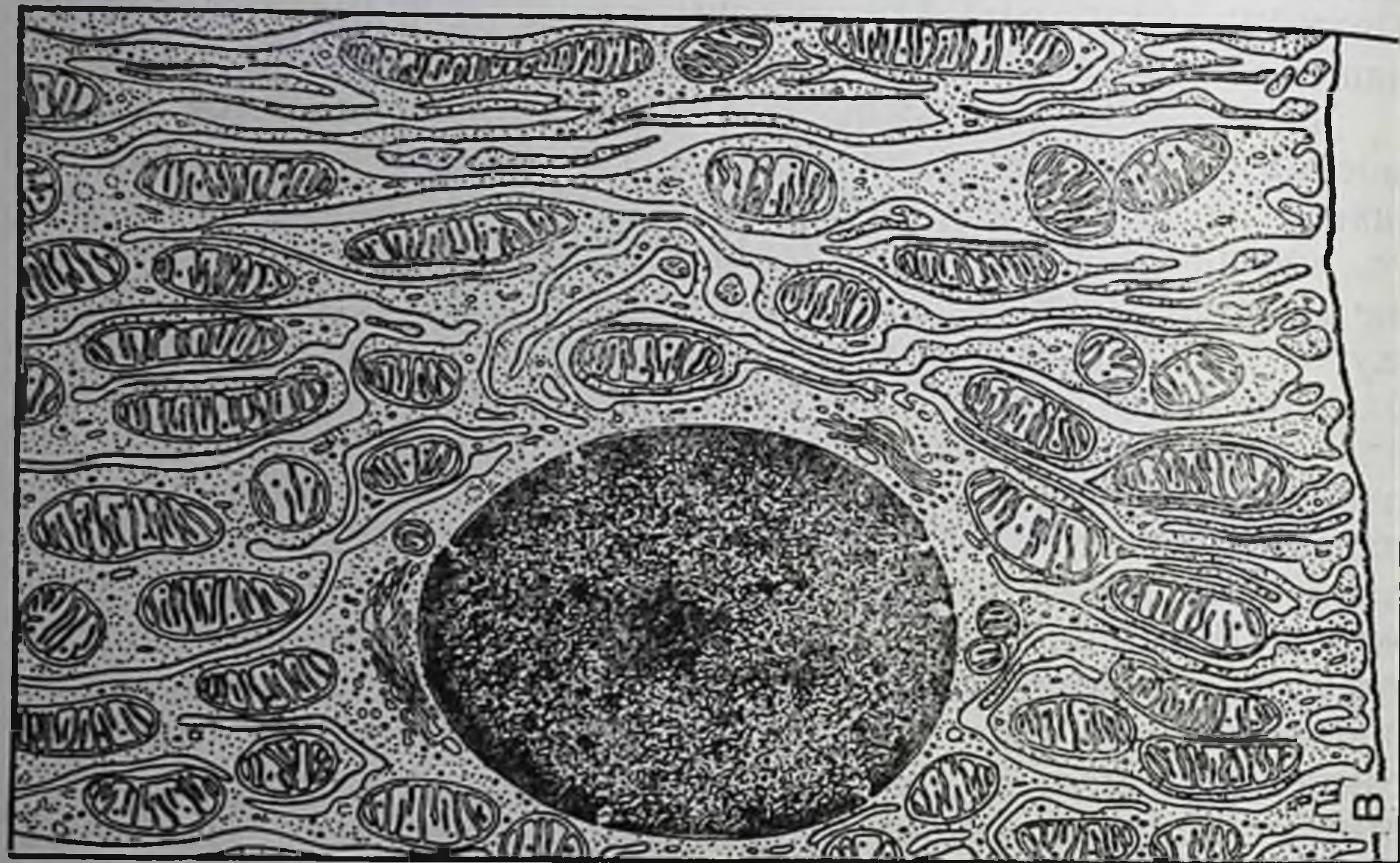
Десмосомы встречаются и при слабо выраженных протоплазматических выступах боковых поверхностей клеток. Поэтому десмосомы электронномикроскопически выявляются чаще, чем межклеточные мостики при световой микроскопии.

До недавнего времени предполагали, что сходное с десмосомами строение имеют и замыкающие пластинки, имеющиеся на стыке соседних клеток ряда эпителиев (кишечного, почечного и других). Однако было показано, что каждая замыкающая пластинка, отделяющая межклеточный промежуток от просвета органа, имеет своеобразное строение и разделяется на *zonula occludens*, расположенную на уровне апикального полюса клеток, и глубже лежащую *zonula adhaerens*. В пределах *zonula occludens* наружные листки плазматических оболочек соседних клеток сливаются, благодаря чему изолируется с поверхности межклеточный промежуток. В *zonula adhaerens* плазматические оболочки контактирующих клеток расходятся, между ними видно щелевидное пространство. Еще базальнее *zonula adhaerens* располагаются уже мелкие десмосомы. Цитоплазма клеток по соседству с *zonula occludens et adhaerens* несколько уплотнена, благодаря чему эта область видна светооптически (Farquhar, Palade, 1963).

Специализированные структуры оболочки основания. Базальная часть клеточной оболочки большинства эпителиальных клеток более или менее ровная, и она в общем повторяет форму прилежащего участка базальной мембраны. Однако у ряда эпителиальных клеток, через которые особенно интенсивно идет транспорт метаболитов (эпителий извитых канальцев нефронов, хориоидного сплетения мозга, солевой железы морских рыб и некоторых других), базальная часть клеточной оболочки в большей или меньшей мере складчатая. Это обусловлено многочисленными инвагинациями оболочки, вдающимися в виде септ внутрь цитоплазмы. Картина складчатости значительно усложняется тем, что от более крупных складок отходят более мелкие самой различной формы.

В результате формируется своеобразный базальный лабиринт (рис. 64), выраженность которого в разных эпителиях неодинакова. В клетках проксимальных отделов извитых

Рис. 64. Схематическое изображение базального лабиринта в клетках проксимальных (А) и дистальных (Б) отделах извитых канальцев, а также в клетках солевой железы (В).



канальцев, хориоидного сплетения, цилиарного тела интрацитоплазматические складки клеточной оболочки относительно короткие и мало разветвленные. В эпителии же дистальных отделов канальцев и некоторых других эпителиях, в которых ионы натрия перемещаются в направлении, обратном концентрационному градиенту, базальный лабиринт развит значительно более мощно. При этом к складкам

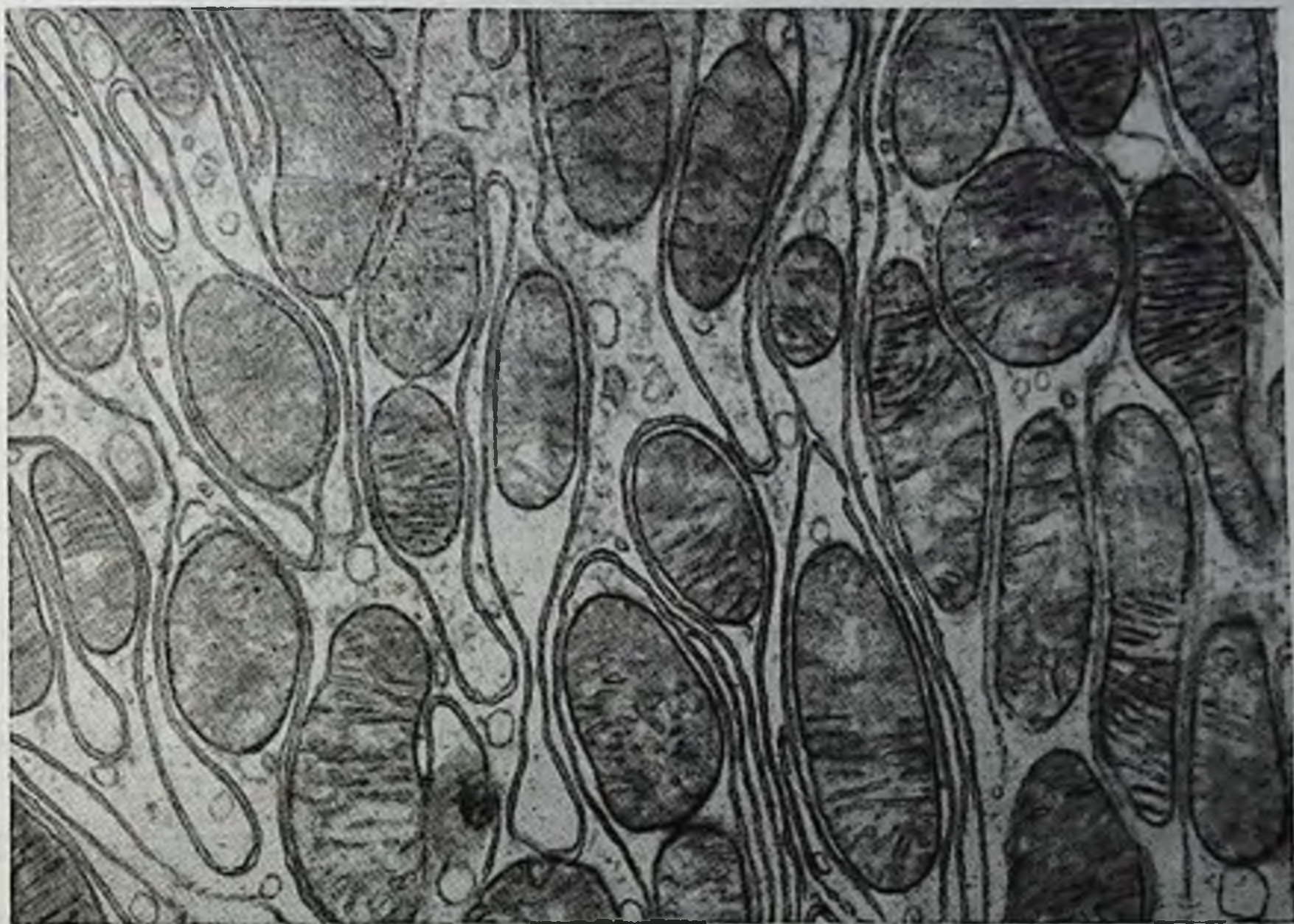


Рис. 65 Участок базального лабиринта и прилегающие к нему митохондрии в клетке солевой железы. Увеличение $\times 80\,000$ (по Fawcett, 1962).

базальной части плазматической оболочки, вдающимся в цитоплазму, тесно прилежат митохондрии, обычно крупные. В названных клетках базальный лабиринт достигает околоядерной области, а в клетках солевой железы, в которых он особенно развит, лабиринт почти достигает апикальной поверхности клеток. При этом мощно развитая система складок разделяет цитоплазму на отдельные прослойки, толщина которых зачастую составляет всего 500—1800 Å и в которых располагаются многочисленные митохондрии (рис. 65). Очевидно, благодаря базальному лабиринту суммарная поверхность плазматической оболочки резко возрастает; это благоприятствует обменным процессам. Вместе с тем факт тесного контакта складок плазматической оболочки и митохондрий позволяет предполагать, что такая локализация

митохондрий создает определенные условия для энергетического обеспечения транспорта вещества через оболочку.

Совокупность приведенных данных о специализированных структурах свободной и базальной поверхности клеток (кутикула, щеточная кайма, базальный лабиринт) подчеркивает важную роль плазматической оболочки для поступления веществ внутрь клеток. Однако, как уже отмечалось в предыдущих главах, ни один из процессов, совершающихся в клетке, не может рассматриваться в качестве монопольной функции той или иной клеточной структуры. Любой совершающийся в клетке процесс требует взаимосвязанной и строго коррелируемой деятельности различных компонентов клетки. Это общее положение может быть проиллюстрировано большим числом примеров. В рассматриваемом аспекте особенно важно подчеркнуть взаимоотношения плазматической оболочки с митохондриями (см. изложенное выше о базальном лабиринте), с эндоплазматической сетью и пр.

Поэтому функция плазматической оболочки не может рассматриваться изолированно, вне связи с общим комплексом внутриклеточных структур и совершающимися в них обменными процессами.

ЛИТЕРАТУРА

- Владимиров Г. Е., Ашмарин И. П., Уринсон А. П. Биохимия, 1953, 18, 5, 582—593.
- Гизе А. Физиология клетки. ИЛ, 1959.
- Комиссарчик Я. Ю. Арх. анат., гистол., эмбриол., 1962, 43, 12, 68—76.
- Насонов Д. Н. и Александров В. Я. Реакция живого вещества на внешние воздействия. М., 1940.
- Насонов Д. Н. и Александров В. Я. Успехи совр. биол., 1943, 16, 6, 577—598.
- Насонов Д. Н. Местная реакция протоплазмы и распространение возбуждения. Изд. АН СССР. М.—Л., 1959.
- Никольский Н. Н. Распределение веществ между клеткой и средой. Руководство по цитологии. Т. 1. «Наука», 1965, стр. 491—552.
- Рубинштейн Д. Л. Общая физиология. М., 1947.
- Робертсон Д. Молекулярная биология клеточных мембран. В кн.: Молекулярная биология. ИЛ, 1963, стр. 102—151.
- Трошин А. С. Проблема клеточной проницаемости. Изд. АН СССР. М.—Л., 1956.
- Шабадаш А. Л. Цитологические и цитохимические представления о барьерных механизмах в клетках. В кн.: Гистогематические барьеры. Изд. АН СССР. М., 1961, стр. 381—393.
- Энгельгардт В. А. и Колотилова А. И. Труды Физиологического института ЛГУ, 1936, 16, 3—14.
- Danielli J. F., Davson H. A. J. Cell. Compt. Physiol., 1934, 5, 4, 495—514.
- Danielli J. F. Circulation, 1962, 26, 5, 2, 1163—1166.

- Davson H. *Circulation*, 1962, 26, 5, 2, 1022—1037.
- Davson H., Danielli J. F. *The permeability of natural membranes*. Cambridge, 1943.
- De Robertis E. J. *Biophys., Biochem. Cytol.*, 1956, 2, 3, 319—337.
- Emmelot P., Bos C., Benedetti P. *Biochem., Biophys. Acta*, 1964, 90, 126—143.
- Elfvin L. J. *Ultrastruct. Res.*, 1963, 8, 3—4, 283—304.
- Fawcett D. W. *Lab. Invest.*, 1961, 10, 1162—1188.
- Fawcett D. W. *Circulation*, 1962, 26, 5, 2, 1105—1126.
- Farquhar M., Palade G. J. *Cell Biol.*, 1963, 17, 3, 375—412.
- Fernandez-Morán H., Finean I. J. *Biophys Biochem. Cytol.*, 1954, 3, 5, 725—741.
- Fernandez-Morán H. *Exp. Cell Res.*, 1958, 5, 586—599.
- Goldfischer S., Essner E., Novikoff A. B. *J. Histochem. Cytochem.*, 1964, 12, 2, 72—95.
- Gorter E., Grendel F. J. *Exp. Med.*, 1925, 41, 3, 439—448.
- Loewenstein W., Kanno J. J. *Cell Biol.*, 1964, 22, 3, 567—599.
- Miller D., Crane R. K. *Biochem., Biophys. Acta*, 1961, 52, 2, 293—298.
- Overton E. *Vierteljahrschr. Naturf. Ges. Zürich.*, 1899, 44, 88—135.
- Parpart A., Dziemian A. *The chemical composition of the red cell membrane*. *Cold. Sp. H. Symp. Q. B.*, 1940, 8, 17—22.
- Robertson I. D. *Biochem. Soc. Symp.*, 1959, 16, 3—43.
- Sandborn E., Koen P., McNabb I. J. *Ultrastruct. Res.*, 1964, 11, 1—2, 123—138.
- Siekewitz P. *Cell structure and metabolic regulation*. Ciba Foundation symposium on the regulation of cell metabolism. Churchill, London, 1959, p. 17—45.
- Sjostrand F. S. *J. Cell. Compt. Physiol.*, 1949, 33, 3, 383—402.
- Stoeckenius W. *Circulation*, 1962, 26, 5, 2, 1066—1069.
- Solomon A. K. *Measurement of the equivalent pore radius in cell membranes*. В кн.: *Membran transport and metabolism*. Praha, 1961, 94—99.
- Troshin A. S. *Sorption properties of protoplasm and their role in cell permeability*. В кн.: *Membrane transport and metabolism*. Praha, 1961, 45—53.

IX

ИНТЕРФАЗНОЕ ЯДРО

Ядро является постоянным структурным компонентом всех животных и растительных клеток. Отсутствие ядра в эритроцитах крови человека и некоторых животных обусловлено его исчезновением на определенной стадии развития и представляет, таким образом, вторичное явление. Оно не только не противоречит данным о всеобщем распространении ядер, но, напротив, подчеркивает их правильность. Аналог ядра — «нуклеоид» имеется у бактерий.

В клетках, размножающихся путем митотического деления, морфология ядер существенно изменяется, в силу чего еще с конца прошлого века различают два состояния ядра: митотическое — во время митоза и интерфазное — в промежутке между митотическими делениями. Накопленный за это время огромный фактический материал существенно расширил представления о различиях между указанными двумя состояниями. Наблюдения за изменением строения ядер при переходе от интерфазного состояния к митозу и обратно пополнились данными о неодинаковой метаболической активности интерфазных ядер и ядер клеток, делящихся путем митоза. Более детальная характеристика особенно-

стей интерфазных ядер будет дана в соответствующих разделах данной главы. Здесь же отметим лишь, что именно в интерфазе обменные процессы в ядрах, как и в клетках в целом, протекают наиболее интенсивно. Ввиду этого старое представление об интерфазном ядре как о покоящемся представляет в настоящее время лишь исторический интерес.

Наши знания в области функциональной морфологии ядер существенно обогатились в последнее время благодаря усовершенствованию методов цитологического исследования и успехам биохимического анализа. Однако, прежде чем перейти к изложению соответствующих данных, следует остановиться на краткой общей морфологической характеристике интерфазных ядер.

Общая морфология интерфазных ядер

В разных клетках форма ядер значительно варьирует. Подавляющее большинство ядер имеет шаровидную или эллипсоидную форму, что в значительной мере зависит от формы той клетки, в которой они находятся. На форме ядра сказывается контакт с органоидами клетки и прежде всего с клеточным центром: если он тесно прилегает к ядру, то в месте соприкосновения с ним ядро вдавливается, приобретая бобовидную или даже подковообразную или кольцевидную форму. В некоторых клетках, как, например, в зернистых лейкоцитах позвоночных и во многих железистых клетках беспозвоночных животных, ядра имеют весьма причудливую форму; в сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитах ядро состоит из нескольких сегментов, соединенных друг с другом тонкими перемычками. В паутинных железах некоторых насекомых ядра ветвистые.

Форма ядер может изменяться и в процессе жизнедеятельности клетки и при ее перемещении. Так, шаровидные ядра лимфоцитов, эмигрирующих из крови в ткани через стенки кровеносных капилляров, резко вытягиваются, когда клетка проникает в узкий, раздвигаемый ею промежуток между соседними эндотелиальными клетками. В процессе такого перемещения наблюдаются самые разнообразные изменения формы ядер. Другим примером изложенного служат преобразования конфигурации ядер питательных клеток яичника жука плавунца. В период, предшествующий росту овоцита, ядро питательной клетки более или менее шаровидное. По мере роста овоцита размеры питательных клеток увеличиваются, а ядро приобретает сложную ветви-

стую форму. Оно образует большое число отростков, глубоко вдающихся в цитоплазму и почти достигающих ее периферии.

В подавляющем большинстве случаев в каждой клетке содержится по одному ядру. Однако имеются и многоядерные клетки, содержащие от 2—3 и до нескольких десятков ядер. Это происходит либо благодаря слиянию в одну нескольких одноядерных клеток, либо путем деления ядер данной клетки без деления ее цитоплазмы; в результате в общей массе цитоплазмы располагается несколько ядер.

Местоположение ядер в полярно дифференцированных клетках (т. е. имеющих отчетливо выраженный базальный и апикальный полюса) относительно постоянно. Так, например, в эпителиальных клетках, имеющих цилиндрическую форму, ядра, как правило, расположены ближе к основанию клеток; в кубическом эпителии ядра занимают более или менее центральное положение. Однако расположение ядер может изменяться при изменении жизнедеятельности клетки, как это наблюдается в овоцитах насекомых: в мелких овоцитах ядра расположены центрально, но по мере роста овоцитов они смещаются в направлении питательных клеток. В растительных клетках местному росту целлюлозной стенки всегда предшествует перемещение ядра к точке роста. По окончании роста в данном участке и начале его в другом месте ядро вновь смещается от первого ко второму. Смещения ядер отчетливо наблюдаются и в клетках, продуцирующих эмаль формирующегося зуба: вначале ядро расположено вблизи поверхности клетки, вдоль которой затем появится первый зачаток вещества эмали; его новообразование предшествует смещению ядра в глубь цитоплазмы.

Большое внимание привлекает к себе вопрос об объеме ядер.

Размеры ядер не только значительно разнятся в клетках различных типов, но они могут быть неодинаковыми и в клетках одного и того же типа. Согласно Ясоби (1923, 1925), наблюдается определенный полиморфизм размеров (объемов) ядер клеток внутренних органов человека и разных животных. Этот вывод основан на результатах измерения диаметра ядер клеток соответствующих органов с последующим графическим изображением полученных данных (по оси абсцисс — величина диаметров ядер, на оси ординат — количество ядер данного размера). Оказалось, что полученные кривые в значительном проценте случаев имеют не одну, а несколько вершин (чаще 3—4). При кариометрическом изучении печени взрослых мышей на вариационной кривой объемов ядер имелось три вершины, соответствующие объемам ядер в 695, 1437 и 2813 условных единиц (для

однойдерных клеток), т. е. объемы ядер при некотором округлении цифр относились друг к другу, как 1:2:4. При изучении других органов были получены несколько иные абсолютные размеры ядер. У человека, например, самыми мелкими являются ядра лимфоцитов, ядра ганглиозных нервных клеток наиболее объемисты. Но соотношение ядер клеток одного типа остается кратным, равняясь приблизительно 1:2:4:8. Эта пропорция характеризует соотношение так называемых главных ядерных классов (K_1, K_2, K_3, K_4), соответствующих вершинам на вариационной кривой объемов ядер. Количество последних, относящихся в данном органе к разным главным ядерным классам, неодинаково; преобладают клетки одного главного ядерного класса, рассматриваемого в силу этого в качестве типичного (для данного органа). На основании полученных данных (соотношение объемов ядер разных классов, равное 1:2:4:8) Ясоби заключил, что рост ядер происходит путем ритмического удвоения их объемов. Приводимые ниже данные свидетельствуют, что кратное увеличение объема ядер связано с явлением полиплоидии.

Наличие в различных типах клеток ядер нескольких главных классов, среди которых выделяется типичный ядерный класс, обнаружено в ряде исследований на разнообразных объектах. Вместе с тем отдельные исследователи не подтвердили этих данных. Так, например, согласно К. Г. Виббе (1961), у зимних и летних лягушек размеры ядер во всех исследованных органах (тонком кишечнике, дне желудка, мочевом пузыре, печени, поджелудочной железе, роговице глаза) мало изменчивы и при графической регистрации полученных результатов для каждого органа получается одновершинная кривая.

Описаны и многочисленные отклонения от кратных соотношений объемов ядер главных классов. Такие отклонения были детально изучены в лаборатории Е. М. Вермеля (Е. М. Вермель, 1940). Было показано, что размеры ядер различных клеток изменяются при эксплантации тканей, при их денервации, воздействии отравляющих веществ (иприта, люизита), при действии ультрафиолетового облучения, некоторых гормонов, а также при малигнизации. При этом увеличение объема ядер не соответствовало правилу Ясоби.

Изменения объемов ядер при специфической деятельности клеток (выработка секретов и гормонов, нервная деятельность и т. п.), описал Benninghoff (1950), сформулировавший положение о функциональном набухании и сморщивании ядер клеток. Этот термин подчеркивает, что рассматриваемое увеличение размеров ядер не связано с явлением полиплоидизации. Результаты биохимических исследований

(см. ниже) подтвердили различия механизма увеличения объема ядер в кратное число раз и при функциональном набухании.

Влияние функционального состояния клеток на размеры (объемы) их ядер может быть проиллюстрировано большим числом примеров. Известны, например, значительные изменения объемов ядер нервных клеток межмышечного сплетения проксимальнее и дистальнее места наложения сдавливающей лигатуры, посредством которой вызывали частичную непроходимость кишечника. Оказалось, что гипертрофия мышц выше места наложения лигатуры сочетается с увеличением примерно в 2 раза величины ядер нервных клеток этого участка кишечника; напротив, ниже места перетяжки отметили как атрофию мышц, так и уменьшение почти в 2 раза размеров ядер нервных клеток.

При пребывании животных на свету средний объем ядер ганглиозного слоя сетчатки возрастал примерно на 40%. После односторонней ампутации конечности у крыс диаметр ядер на стороне операции уменьшался, а на противоположной увеличивался соответственно развитию компенсаторной гипертрофии мышц оставленной конечности.

Определенного внимания заслуживают и данные об изменениях размеров ядер желез внутренней секреции при экспериментально вызванном усилении или ослаблении их функции. Как известно, после удаления гипофиза у подопытных животных резко снижается продукция глюкокортикоидов клетками пучковой зоны коры надпочечника вследствие отсутствия выработки АКТГ. Объем ядер пучковой зоны при этом существенно уменьшается. При развитии же адаптационного синдрома под влиянием разнообразных агентов (инъекция токсина, воздействие холода, иммобилизация) объем ядер пучковой зоны возрастает и превышает таковой у контрольных животных, что совпадает с усиленной продукцией клетками этой зоны глюкокортикоидов. Объем ядер клеток клубочковой зоны, не участвующих в выработке глюкокортикоидов, при этом не увеличивается. Если же усилить продукцию альдостерона, продуцируемого клетками клубочковой зоны, то объем ядер клеток данной зоны возрастет.

При угнетении функции щитовидной железы под влиянием тироксина или высушенного препарата щитовидной железы, или в результате согревания животных размеры ядер фолликулярного эпителия уменьшаются. Наоборот, стимуляция функции щитовидной железы под влиянием тиреотропного гормона гипофиза или метилтиоурацила, усиливающего продукцию данного гормона, сопровождается увеличением объема ядер фолликулярного эпителия.

Эти примеры особенно показательны, поскольку отмеченные изменения объема ядер могут рассматриваться в непосредственной связи с метаболической активностью соответствующих клеток. Следует также отметить, что ядра в клетках эмбрионов, как правило, крупнее, чем у взрослых животных. Вместе с тем у эмбрионов интенсивнее протекают процессы внутриклеточного синтеза. Таким образом, укрупнение ядер у эмбрионов также отражает усиление синтетических процессов в их клетках.

Большое число аналогичных наблюдений позволяет рассматривать функциональное увеличение объема ядер в качестве критерия усиленной деятельности клеток. Вместе с тем укрупнение размеров ядер иногда наблюдается при альтерирующем (повреждающем) действии на клетки некоторых агентов. Приводится описание, например, увеличения объемов ядер тканевых культур при воздействии на них различных вирусов (Я. Е. Хесин, 1964). Так как укрупнение ядер в данном случае представляет одну из первых реакций клетки на повреждающее действие вируса, то это явление было названо «дезинтегративным набуханием ядер». Тем самым подчеркивается его отличие от функционального набухания, которое возникает в силу усиленной физиологической деятельности клетки и, как правило, не связано с влиянием альтерирующих воздействий.

Резюмируя изложенное, еще раз отметим два типа изменений объемов интерфазных ядер: кратное в соответствии с правилом Jacobi и функциональное (или дезинтегративное), не подчиняющееся данному правилу. Основными структурными компонентами ядер самых разнообразных клеток являются ядерная оболочка, одно или нескольких ядрышек и основное содержимое ядра — его кариоплазма.

Реальное существование ядерной оболочки в отличие от оболочки клетки (см. главу VIII) было с несомненностью доказано уже давно. Четко контурируя ядро, она не только хорошо видна на гистологических препаратах, но может быть выявлена и путем микропрепаровки. Так, с помощью игл микроманипулятора ядерную оболочку удается оттянуть, вследствие чего ядро деформируется, и даже изолировать. При проколе ядерной оболочки жидкое содержимое ядра изливается в цитоплазму, а остатки ядра сморщиваются. Эти и ряд других наблюдений послужили основанием для заключения о наличии в ядре благодаря ядерной оболочке особой внутриядерной среды, химический состав которой в значительной мере уточнен новейшими биохимическими исследованиями.

Ядрышко (или ядрышки) отчетливо выявляются в ядрах почти всех животных и растительных клеток, причем они

ясно видны не только на фиксированном и окрашенном препарате, но и прижизненно. Их число в ядрах разных клеток млекопитающих варьирует сравнительно незначительно, в однотипных же клетках более низкоорганизованных животных оно значительно колеблется. Так, например, в яйцеклетках тритонов и многоножек, число ядрышек может достигать нескольких сотен и даже свыше тысячи, в то время как в овоцитах ракообразных они единичны. Размеры ядрышек разных клеток непостоянны, являясь, как правило, более крупными у представителей одного и того же вида в эмбриональных, интенсивно растущих и регенерирующих клетках, а также в опухолевых клетках, особенно интенсивно пролиферирующих.

Кариоплазма зачастую образована веществом более или менее жидкой консистенции, имеющим сравнительно небольшую вязкость, поскольку оно легко вытекает из ядра при проколе ядерной оболочки, его удается отсосать микропипеткой и пр. (см. выше). У некоторых простейших ядро имеет обычно плотную студенистую консистенцию. Вязкость кариоплазмы варьирует в зависимости от функционального состояния клеток (см. главу XIV). На фиксированном и окрашенном препарате в пределах кариоплазмы выявляется так называемая ядерная сеть (или ядерный остов). Ее петли образованы веществом, не окрашивающимся основными красителями, но хорошо окрашивающимся кислыми анилиновыми красками и иногда имеющим волокнистое строение. По ходу петель и особенно в местах их пересечения располагаются различных размеров и формы глыбки, интенсивно прокрашивающиеся основными красителями и получившие в силу этого название хроматиновых. Вещество этих глыбок — хроматин; он отчетливо выявляется на фоне не окрашивающихся основными красителями петель, вещество которых вследствие этого описывалось как ахроматиновое. Глыбки хроматина обозначаются также термином «хромоцентры».

В данном разделе мы ограничиваемся приведенными общими данными об основных структурных компонентах ядра, чтобы вернуться к их более детальной характеристике ниже, после рассмотрения химического состава ядра.

Химический состав

Среди основных химических ингредиентов ядра следует прежде всего назвать ДНК, с которой связана передача генетической информации от одного поколения клеток к другому.

Согласно результатам микрохимического изучения изолированных ядер и клеточных взвесей, содержание ДНК в

ядрах разнообразных клеток одного и того же организма отличается значительной стабильностью. Так, например, в ядрах эритроцитов, клеток печени, почек, селезенки, поджелудочной железы и в ядрах из сердца курицы на одно ядро приходится около $2,5 \cdot 10^{-9}$ мг ДНК, а в клетках печени и почек собаки и свиньи — около $5 \cdot 10^{-9}$ мг. Ядра же сперматозоидов содержат лишь половину количества ДНК, имеющейся в ядрах соматических клеток, т. е. количество ДНК соответствует характеру хромосомного набора — гаплоидному или диплоидному (табл. 12).

Таблица 12

Среднее содержание ДНК (в миллиграммах $\times 10^{-9}$ на 1 ядро)
в тканях различных животных (по А. Мирскому и С. Осава, 1963)

Организм	Сперми	Эритроцит	Лейкоцит	Печень	Почка	Селезенка	Сердце	Поджелудочная железа	Зобная железа
Курица	—	2,58	—	2,65	2,28	2,63	2,54	2,70	—
Теленок	—	—	—	6,22	6,25	—	—	—	7,15
Бык	3,42	—	—	7,04	6,63	7,26	—	7,15	—
Человек	3,25	—	7,30	10,36	8,6	—	—	—	—
Крыса	—	—	—	9,47	6,75	6,55	6,50	7,38	7,44
Свинья	—	—	—	5,0	5,2	—	—	—	—
Собака	—	—	—	5,5	5,3	—	—	—	—
Карп	1,64	3,49	—	3,33	3,5	—	—	—	—
Пузанок	0,97	1,97	—	2,01	—	—	—	—	—
Жаба	3,70	7,33	—	—	—	—	—	—	—
Лягушка	—	15,0	—	15,7	—	—	—	—	—

Принципиально однотипные данные приведены Р. Сэдджером и Ф. Райном (1964) в табл. 13.

Таблица 13

Содержание ДНК в клетках различных организмов (по Р. Сэдджеру и Ф. Райну)

Организм	Содержание ДНК на 1 ядро в 10^{-12} г	
	гаплоидные клетки	диплоидные клетки
Мышь	—	5
Крыса	—	6,5—7,6
Бык	3,3	6,4—6,8
Человек	—	6,0—6,8
Курица	1,3	2,4—2,6
Сельдь	0,91	1,99
Карп	1,6	3,0—3,3
Радужная форель	2,45	4,9
Жаба	3,7	7,3
Лягушка	—	15,0

емом ядер и содержанием в них ДНК: в большинстве случаев увеличенному в определенное число раз содержанию ДНК соответствует нарастание в такое же количество раз объемов ядер. Поэтому можно считать, что полиплоидия является главной причиной, обуславливающей описанное выше кратное увеличение объемов ядер (т. е. наличие ядер не только типичного, но и других классов) ¹.

В ядрах клеток имеется и РНК, содержание которой значительно менее постоянное. Оно существенно изменяется при разных функциональных состояниях соответствующих клеток.

Значительные изменения содержания РНК ядер печеночных клеток при голодании подопытных животных были установлены, в частности, при биохимическом изучении ядер, изолированных в неводных средах. Результаты таких опытов заслуживают особого внимания, поскольку ядра изучали в условиях, исключающих потерю РНК.

Биохимическое изучение разных фракций, полученных путем ультрацентрифугирования, показало, что из ядер может быть выделена высокополимерная РНК и низкополимерная S-РНК. Последующие более детальные исследования установили гетерогенность выделяемой из ядер высокополимерной РНК. Оказалось, что эту гетерогенность можно объяснить тем, что фракция высокополимерной РНК состоит из РНК как ГЦ-, так и АУ-типов ². РНК ГЦ-типа характерна, как известно, для рибосом, информационная же РНК относится к РНК АУ-типа. Результаты соответствующих опытов позволили заключить, что в ядрах клеток содержатся все три известных в настоящее время типа РНК: информационная, рибосомная и транспортная РНК (Г. П. Георгиев, 1962).

Данные о наличии в ядрах информационной РНК заслуживают особого внимания в связи с современными воззрениями о механизме синтеза белка в клетке. Считается общепринятым, что синтез белка, специфического для данного вида клеток, кодируется ДНК. Информационная РНК как бы считывает соответствующую информацию с ДНК и передает ее на рибосомы, на которых синтезируется белок. Естественно, что для аргументации данного воззрения большое значение имеет доказательство наличия в ядрах информационной РНК.

¹ Объем интерфазных ядер может быть увеличен и при нормальном содержании ДНК. Поэтому на основании измерения объема ядер нельзя судить о количестве имеющейся в них ДНК. Удвоение объема ядер, не связанное с изменением количества ДНК, обозначают термином «парагеномическое изменение».

² ГЦ — гуанин + цитозин, АУ — аденин + урацил.

Из числа белков, входящих в состав клеточных ядер, следует прежде всего назвать белки гистонного типа (протамины в спермиях), которые образуют соединения типа солей с ДНК. Помимо гистонов, ядра содержат негистонные, так называемые остаточные белки, нерастворимые в разведенных солевых растворах. Несмотря на отличия негистонных белков от гистонных, первые, подобно вторым, соединены в ядрах с фосфатными группами ДНК.

Методы экстракции ядер в растворах солей и щелочей с последующей гистохимической обработкой по Фельгену и Браше позволили установить локализацию перечисленных химических компонентов ядра в его основных структурных элементах.

По данным, полученным в лаборатории, руководимой И. Б. Збарским (И. Б. Збарский, 1962), при экстракции ядер в 1 м. NaCl из ядер выделяется фракция ДНП, содержащая всю ядерную ДНК, гистоновый и негистоновый белок. Последующей обработкой 0,02 н. NaOH из ядер извлекается фракция так называемого кислого белка, содержащего РНК и около 2,5% триптофана. Эта фракция входит в состав ядрышка и кариоплазмы, причем последняя содержит и растворимую глобулиновую фракцию. Наконец, в состав ядер входит нерастворимый в щелочи «остаточный белок», в котором нет ни нуклеиновых кислот, ни триптофана, но который содержит 13—15% липидов. Из «остаточного белка» построена ядерная оболочка. В ядрах клеток печени крыс выявлены следующие соотношения упомянутых фракций: фракция ДНП составляет 60—70%, фракция «кислого белка»—5—8%,

Таблица 14
Соотношение и состав ядерных фракций печени крысы
(по И. Б. Збарскому, 1962)

Структура ядра	Соответствующая фракция	Растворитель	Процент сухого вещества	Компоненты фракции
Ядерный сок ДНП хроматина	Глобулиновая ДНП	0,14 м. NaCl	20	РНК 2—8% ДНК 33%, гистон 50%, негистоновый белок 17% РНК 16—20%
		1—2 м. NaCl	70	
Ядрышко и сходное с ним вещество ядра	Кислый белок	0,02 н. NaOH	5—6	
Оболочки	Остаточный белок	—	4—5	Нет фосфора, нет триптофана

«остаточный белок» — около 5%, растворимая глобулиновая фракция — около 20% общего состава ядра.

Соотношение и состав указанных фракций приведены в табл. 14.

Процентное содержание основных ядерных фракций у животных разных видов приведено в табл. 15.

Таблица 15
Среднее процентное содержание ядерных фракций у разных животных
(по Г. П. Георгиеву, Л. П. Ермолаевой и И. Б. Збарскому, 1960)

Фракция	Крыса			Мышь	Курица	Осстр
	печень	селе- зенка	мозг	асцитные клетки опухоли Эрлиха	печень	сперма
Глобулиновая	20,4	26,2	17,0	—	29,0	3,0
ДНП	67,6	64,3	66,1	66,6	52,2	90,5
ДНК	22,2	25,2	19,3	18,2	19,4	42,2
Негистоновый белок	12,4	5,2	13,8	9,8	6,6	2,6
Гистоны или прота- мины	33,0	35,9	33,0	38,6	26,6	45,7
Кислый белок	7,5	5,5	13,1	36,0	12,1	4,1
Остаточный белок . . .	4,5	4,0	3,8	3,4	6,3	2,4

Следует, однако, учитывать, что содержание белка в ядрах непостоянно и значительно изменяется в разные периоды жизнедеятельности клетки. Так, например, по данным интерференционной микроскопии, при содержании лягушек на свету количество белка в ядрах ганглиозных клеток сетчатки возрастает примерно на 30% уже за первые 30 минут опыта (В. Я. Бродский и А. Ф. Кузнецова, 1961).

Изменения содержания в ядрах белка, а также воды и солей (см. ниже) вызывают описанное выше явление функционального набухания или сморщивания ядер. Сопоставление этих данных с изложенным при рассмотрении явлений полиплоидии свидетельствует о двойном механизме вариаций объема ядер: в основе одного из них лежит изменение содержания в ядрах ДНК, в основе другого — изменения количества белка, воды, солей.

Опыты с использованием радиоактивных изотопов убедительно продемонстрировали синтез в ядрах белка и нуклеиновых кислот.

Синтез в ядрах белка выявлен, в частности, при инъекции животным различных аминокислот, меченных по N^{15} или C^{14} , с последующей изоляцией ядер и выделением из них гистонов и негистоновых белков. Быстрое включение таких аминокислот в ядра позволило выявить значительную интенсивность синтеза белка, особенно негистонового. Об этом

свидетельствует, в частности, следующий подсчет, основанный на скорости включения в белки изолированных ядер аминокислот, меченных C^{14} : если принять молекулярный вес белка равным 50 000, то оказывается, что изолированное ядро синтезирует каждую секунду в среднем 22 молекулы белка. Представления о синтезе белка в ядрах хорошо согласуются с данными о наличии в ядрах так называемых рН 5-ферментов, участвующих в активации аминокислот, что важно для образования полипептидных цепочек (см. ниже).

По данным ауторадиографического исследования разных клеток, синтез белка в интерфазе идет значительно более активно, чем во время митоза (Linnartz-Niklas и др., 1964). Это подтверждено и при изучении ядер, изолированных с помощью усовершенствованного метода получения ядерной фракции, свободной от цитоплазматических примесей. Меченные C^{14} аминокислоты быстро включаются в аргинин- и лизинсодержащие гистонные белки таких ядер (Allfrey, Littay, Mirsky, 1964).

Синтез ДНК в ядрах убедительно показан на разнообразных объектах при использовании тимидина, меченного тритием. Однако синтез ДНК осуществляется не на протяжении всей интерфазы, а лишь в определенный ее период — так называемый период S (см. главу XI).

О наличии в ядрах синтеза РНК свидетельствуют многочисленные опыты с использованием разнообразных предшественников РНК, меченных соответствующими изотопами (в частности, P^{32}). Оказалось, что включение изотопов в РНК ядер совершается раньше, чем в РНК цитоплазмы (рис. 66). Результаты таких опытов исключают предположение о поступлении всей РНК из цитоплазмы в ядро, так как в этом случае метка должна бы раньше обнаруживаться в цитоплазме, что в приведенных экспериментах не наблюдалось. Из большого числа таких опытов следует отметить результаты цитофотометрических исследований В. Я. Бродского (1961), установившего, что при содержании лягушек на свету содержание РНК увеличивается в ядрах нейронов сетчатки раньше, чем в их цитоплазме. При этом количество РНК быстрее нарастает в биполярных нервных клетках сетчатки, являющихся фоторецепторными элементами, чем в нейронах ганглиозного слоя, которые расположены в глубине сетчатки и непосредственно не воспринимают световое раздражение.

В пользу воззрения о синтезе РНК в ядрах свидетельствуют и результаты опытов по определению интенсивности включения меченых предшественников в РНК цитоплазмы после удаления из клеток ядер. В таких экспериментах, проведенных на клетках культур амниотического эпителия

человека, было показано, что включение C^{14} аденина и уридина в РНК лишенной ядра клетки резко снижается и достигает всего около 1% такового в ядродержащих клетках. Разумеется, на результатах данных опытов в известной мере мог сказаться самый факт травматизации клеток. Тем не менее одним этим обстоятельством, по-видимому, нельзя объяс-

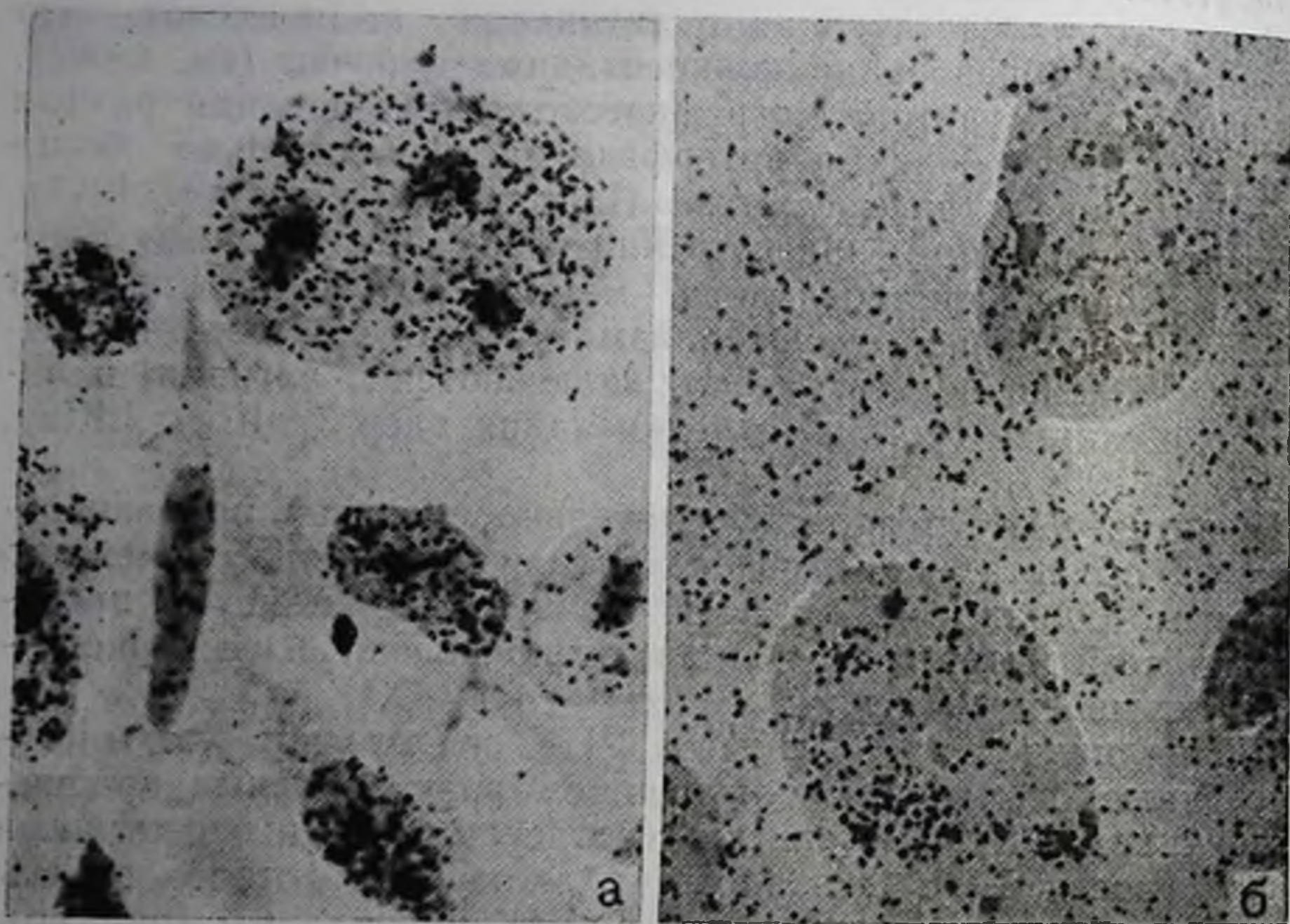


Рис. 66. Авторадиограммы клеток почек мышей в культуре ткани через 5 минут инкубации с H^3 -уридином. Увеличение $\times 600$ (по Linnartz-Niklas, 1964).

а — фиксация сразу после окончания инкубации; изотоп расположен только в ядре; б — после 120-минутного пребывания в свежей среде без уридина; значительная радиоактивность в цитоплазме вследствие проникновения в нее из ядра РНК, меченной H^3 .

нить выявленное различие между опытом и контролем, поскольку в аналогичных условиях синтез белка в цитоплазме не угнетался.

Интенсивный синтез РНК в интерфазных ядрах вновь описан в самое последнее время при ауторадиографическом изучении включения предшественников РНК, меченных тритием, в разнообразные животные клетки. Показательно, что, согласно этим наблюдениям, интенсивность синтеза РНК в интерфазных ядрах в 10—20 раз больше, чем в мета- и анафазе митоза. В цитоплазме синтез РНК практически не происходит ни в интерфазе, ни во время митотического деления (Linnartz-Niklas и др., 1964). Вместе с тем сходные опыты

на некоторых других объектах (амебы, ацетабуларии) дали не вполне однозначные результаты. По-видимому, пока нет еще достаточных оснований утверждать, что РНК синтезируется только в ядре, однако самый факт синтеза РНК в ядре не вызывает сомнений. Вопрос о приуроченности синтеза РНК к определенным ядерным структурам будет рассмотрен ниже.

Особого внимания заслуживает вопрос о ферментном составе ядер. Считается общепринятым, что в ядрах нет окислительных ферментов (дегидрогеназ и ферментов переноса электронов). Напротив, в ядрах имеются АТФ-аза, гликолитические ферменты, как использующие АТФ (гексокиназа и фосфофруктокиназа), так и приводящие к образованию АТФ на поздних стадиях гликолиза (фосфоглицерокиназа и пируваткиназа) (Г. Зиберт, 1962). Наличие в ядрах набора гликолитических ферментов, необходимых для гликолитического образования АТФ, отмечает также В. С. Гайцхоки (1964).

При биохимическом изучении изолированных ядер зубной железы и печени теленка в них выявлена глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа. С изложенным согласуются данные о наличии в ядрах клеток зародышей пшеницы целого набора гликолитических ферментов: альдолазы, фосфоглицеральдегид-дегидрогеназы, энолазы, пируваткиназы. Активность этих ферментов в единицах на 1 мг изолированной фракции ядер выше, чем на 1 мг целой ткани, из которой ядра были выделены. Так, например, активность альдолазы и энолазы на 1 мг фракции изолированных ядер равна соответственно 3,04 и 43,2 единицы, а активность этих же ферментов в пересчете на 1 мг целой ткани составляет всего 1,97 и 27,2. Приведенные цифры свидетельствуют о преимущественной локализации указанных ферментов в ядрах (А. Мирский и С. Осава, 1963).

В ядрах имеются также так называемые ядерные рН 5-ферменты, при участии которых осуществляется активация аминокислот в процессе синтеза белка.

Остальные ферменты ядер подразделены А. Мирским (А. Мирский и С. Осава, 1963) на две основные группы: а) ферменты, широко распространенные в ядрах разнообразных тканей; б) ферменты, отображающие специальную дифференцировку соответствующих тканей.

К числу ферментов первой группы относится прежде всего эстераза, содержание которой в ядрах разнообразных тканей является значительным. В ядрах клеток многих тканей выявлены нуклеозиддифосфорилаза, аденозиндезаминаза и гуаназа, а также фермент, синтезирующий НАД (последний в ядрах из сердца, печени, поджелудочной железы теленка).

Содержание в ядрах щелочной фосфатазы, некоторых нуклеотид-специфических фосфатаз, β -глюкуронидазы, кислой ДНК-азы (ДНК-аза II) в ядрах небольшое. Гистохимически выявляемая активность этих ферментов в ядрах, по-видимому, объясняется их диффузией сюда из цитоплазмы в ходе изготовления препарата (в частности, при инкубации в соответствующих растворах).

К ферментам второй группы отнесена прежде всего аргиназа ядер печеночных клеток млекопитающих (теленка, лошади) и курицы, ядер клеток почек теленка. Активность данного фермента в ядрах клеток печени равна 54—63% таковой в цитоплазме, а в ядрах клеток почек теленка она даже несколько превышает активность в цитоплазме.

В ядрах клеток поджелудочной железы найдена уриказа, липаза, амилаза, а в ядрах клеток слизистой оболочки кишечника — щелочная фосфатаза, но относительное содержание данных ферментов в ядрах по отношению к цитоплазме (соотношение ядро/цитоплазма) очень мало.

Из числа ферментов, участвующих в синтезе и расщеплении свободных нуклеотидов и их компонентов в ядрах некоторых тканей, выявлена активность ферментов синтеза пентозофосфатов, аденозиндезаминазы, нуклеозидтрансферазы, гуаниндезаминазы, НАД-нуклеозидазы, НАД-пирофосфорилазы, фермента переаминирования — аминотрансферазы, некоторых протеиназ и пептидаз.

Процессы синтеза белка и нуклеиновых кислот в ядре требуют определенного энергетического обеспечения, выяснение его конкретных механизмов представляет очевидный интерес. Выше уже отмечено, что в ядрах нет окислительных ферментов и поэтому энергетические потребности ядер не могут быть обеспечены за счет окислительно-восстановительных процессов. Считают, что энергия, используемая в метаболических процессах, накапливается в ядрах благодаря образованию в них АТФ в ходе гликолиза. В пользу данного представления свидетельствует наличие в ядрах гликолитических ферментов (см. выше). Вместе с тем вероятный синтез в ядре богатых энергией моонуклеозидтрифосфатов (АТФ и др.), по-видимому, сочетается и с поступлением этих соединений в ядро из цитоплазмы (В. С. Гайцхоки, 1964). Таким образом, допускается двойственный источник обеспечения внутриядерных энергетических процессов, причем поступление богатых энергией соединений из цитоплазмы в ядро подчеркивает важность взаимодействия обоих клеточных компонентов.

Согласно данным изучения изолированных ядер зубной железы, ДНК выполняет роль кофактора в синтезе богатых энергией фосфорных соединений и при удалении больших

количеств ДНК под влиянием ДНК-азы ядра перестают синтезировать АТФ (А. Мирский, 1962).

В ядрах имеется также кальций, магний, натрий, причем первый из них связан с ДНК, а второй — с белком. От присутствия натрия зависит поступление аминокислот внутрь ядра и замена натрия в опыте другим металлом приостанавливает этот процесс. Однако для включения аминокислот в белки ядра присутствие натрия уже не требуется. Помимо того, в ядрах содержатся неорганический фосфор, железо, цинк, медь, кобальт и вольфрам, а в ничтожных концентрациях — литий, никель, хром и некоторые другие металлы. Гистохимически и биохимически в ядрах выявлены липиды, на долю которых приходится 10—20% сухого веса ядер. Большая часть ядерных липидов связана с белками, образуя липопротеиды или липонуклеопротеиды.

Основные структурные компоненты ядра

ЯДЕРНАЯ ОБОЛОЧКА

Выше уже указывалось, что реальное существование ядерной оболочки самых разнообразных клеток было с несомненностью установлено сравнительно давно на основании светооптических исследований и многочисленных экспериментов с применением микрургии. Отдавая должное значимости этих наблюдений, нельзя вместе с тем не отметить крайней их ограниченности по вопросу о строении ядерной оболочки, которая в световом микроскопе имеет вид бесструктурной мембраны. Значительный прогресс в этом направлении был достигнут с применением электронной микроскопии.

По данным электронной микроскопии, ядерная оболочка двуслойна и толщина каждого из ее двух слоев обычно колеблется от 60 до 90 Å; промежуток между ними, обозначаемый как перинуклеарное пространство, достигает ширины 100—200, а иногда и до 1000 Å. Наружный листок ядерной оболочки непосредственно переходит в мембраны эндоплазматической сети. Вдоль поверхности наружного листка ядерной оболочки, обращенного к цитоплазме, как и на наружной поверхности мембран эндоплазматической сети, могут располагаться рибосомы. Оба слоя ядерной оболочки имеют такое же строение, как остальные внутриклеточные мембраны, т. е. состоят из белков и липидов. Последние

образуют бимолекулярный слой, причем возможно, что в нем молекулы обращены друг к другу гидрофобными концами, как и в клеточной оболочке (см. главу VIII).

При очень больших увеличениях электронного микроскопа показано, что каждый из двух листков ядерной оболочки имеет трехслойное строение (подобно плазматической оболочке) и соответствует элементарной мембране (Utamoto, 1963). Липиды ядерной оболочки представлены, вероятно, фосфолипидами и сфингомиелином. Белки расположены по обеим поверхностям липидного слоя. Они имеют волокнистое строение и при некоторых специальных методах биохимического исследования выявляются в виде так называемого остаточного белка (см. выше).

По данным многих авторов (Watson, 1954, 1955, и др.), ядерная оболочка в самых различных клетках пронизана большим числом истинных пор с диаметром 200—300 Å (рис. 67). Иногда встречаются и более крупные поры — с диаметром до 1000 Å. По краям таких истинных пор оба листка ядерной оболочки сливаются друг с другом. Однако поры не представляют пустые пространства, так как они заполнены веществом с умеренной электронной плотностью. Это вещество зачастую цилиндрической формы, оно вдаётся в вещество ядра, а на меньшее протяжение и в цитоплазму.

В последнее время получены дополнительные доказательства существования истинных пор в ядерной оболочке не только в животных, но и в ряде растительных клеток. Вместе с тем отдельные авторы (А. Поликар, Ш. Бо, 1962) полагают, что истинных пор в ядерной оболочке нет, но что имеется большое число точек, в которых оба листка ядерной оболочки сливаются в один резко истонченный слой толщиной всего 30—40 Å. Ввиду указанной резкой истонченности этого слоя он, по мнению упомянутых авторов, на электронограммах зачастую не выявляется. С этой точки зрения о порах можно говорить в известной мере условно и, по-видимому, больше в функциональном аспекте, чем в структурном¹ (рис. 68).

Наконец, в некоторых клетках поры имеются только во внутреннем листке ядерной оболочки. Такие поры диаметром около 400 Å были, в частности, обнаружены во внутреннем листке ядерной оболочки овоцитов лягушки (Callan, Tomlin, 1950), у амёб, в клетках слюнных желез мотыля и в некоторых других клетках. Наружный слой их ядерной оболочки:

¹ В литературе имеются указания на то, что замыкающая поры диафрагма представляет артефакт, обусловленный направлением среза при ультрамикротомировании.

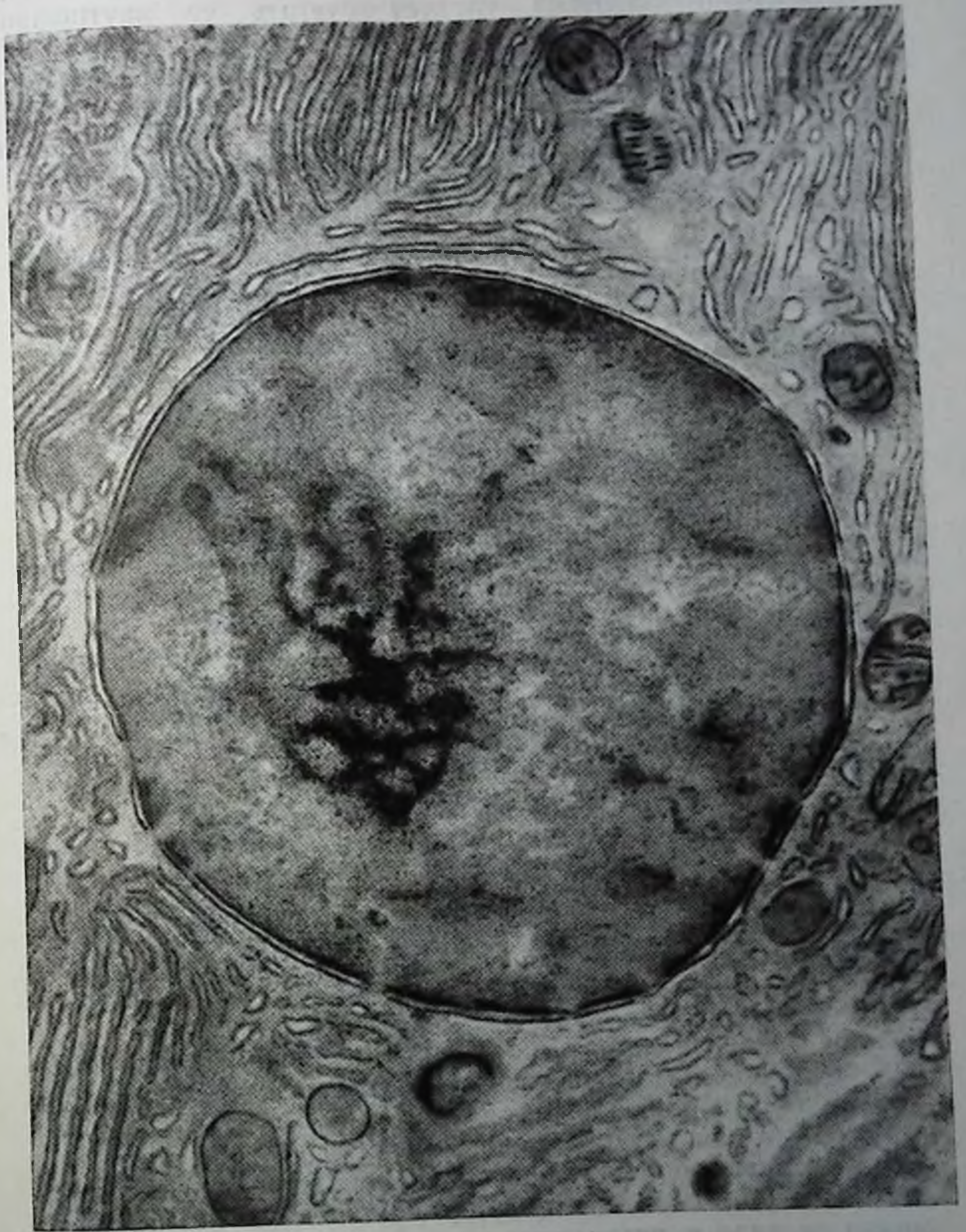


Рис. 67. Ультраструктура ядра. Поры ядерной оболочки (по Браше, 1962).

сплошной. Ввиду этого высказано предположение, что истинной ядерной оболочкой следует считать ее внутренний листок.

Для оценки функциональной значимости ядерной оболочки большое значение имеет вопрос о ее проницаемости, определяющей течение обменных процессов между ядром и цитоплазмой. Ввиду того что эти процессы имеют жизненно



Рис. 68. Схема основных типов взаимоотношений ядра и цитоплазмы. 1 — пора ядерной оболочки; 2 — отграничение вещества ядра внутренним листком ядерной оболочки от полости эндоплазматической сети; 3 — отшнуровывание от вещества ядра участков, проникающих в цитоплазму; 4 — «ядерный фагоцитоз». Стрелками помечено направление перемещения веществ из ядра в цитоплазму и в противоположном направлении. Я — ядро; Ц — цитоплазма; ЭС — эндоплазматическая сеть; М — митохондрии.

важное значение для клетки, вопрос о проницаемости ядерной оболочки и морфологическом субстрате обмена через нее приобрел большой интерес.

Особая значимость обменных процессов, совершающихся через ядерную оболочку, подчеркивается современными представлениями о механизме передачи наследственной информации от ядра к цитоплазме посредством высокополимерной информационной РНК, считывающей с ДНК ядер генетическую информацию и передающей ее на рибосомы цитоплазмы. Для того чтобы в последней не нарушился синтез свойственного данному типу клеток белка, информационная РНК должна свободно поступать из ядра в цитоплазму. Весьма

важное значение имеет и поступление в противоположном направлении, т. е. из цитоплазмы в ядро, ряда веществ, в том числе и богатых энергией монопнуклеозидтрифосфатов (АТФ и др.), синтезируемых в цитоплазме и поступающих затем в ядро для энергетического обеспечения в нем соответствующих процессов.

Ввиду всего изложенного значительное внимание было уделено постановке экспериментов по изучению проницаемости ядерной оболочки.

Проницаемость ядерной оболочки. По скорости набухания и отбухания изолированных ядер овоцитов лягушки было установлено, что вода, катионы калия, натрия, цезия, рубидия, лития, кальция, магния, стронция и многие анионы (хлориды, йодиды, сульфаты, фосфаты, цитраты, ацетаты) очень быстро проникают в ядра и выходят из них. Авторадиографически было выявлено также проникновение в ядра клеток радиоактивного калия и натрия (K^{42} и Na^{22}), сульфатов и фосфатов, меченных радиоактивными изотопами ($P^{32}O_4$, $S^{35}O_4$), а также свободных C^{14} -лейцина и C^{14} -аланина, не включенных в белки и другие макромолекулы.

В ядра овоцитов лягушки свободно проникают такие сахара, как ксилоза, глюкоза, сахароза, раффиноза, неполимеризованные нуклеиновые кислоты (Callan, 1952), а в изолированные ядра печени — сывороточный альбумин, частично гидролизованная желатина, гемоглобин. Последний легко проникает и в изолированные ядра овоцитов лягушки.

По данным Harding и Feldhegg (1959), из цитоплазмы в ядра поступают разнообразные вещества с молекулярным весом до 40 000. Более крупномолекулярные вещества (например, поливинилпирролидон с молекулярным весом более 40 000 и бычий сывороточный альбумин с молекулярным весом 65 000), инъецированные в цитоплазму яиц лягушки, в ядрах не обнаруживаются. В изолированные ядра клеток печени крыс сравнительно легко поступают вещества с высокой плотностью электрических зарядов (например, гепарин), вытесняя из ядер высокополимерную ДНК.

В опытах с интактными амёбами и корешками лука Brashet (1955) установил проникновение в ядра рибонуклеазы. При использовании изолированных ядер печени крыс такие же данные получены не только с рибонуклеазой, но и с дезоксирибонуклеазой, причем специфическое действие обоих энзимов, устанавливаемое по исчезновению в таких ядрах реакции соответственно на РНК или ДНК, проявляется весьма быстро — реакция на РНК резко ослаблялась уже после 30-секундного воздействия, а реакция на ДНК — через 1—4 минуты. Отмечено также проникновение дезоксирибонуклеазы в ядра вилочковой железы телят.

В опытах *in vivo* обнаружено проникновение через ядерную оболочку в ядра клеток протаминов и гистонов. Многочисленные опыты А. Мирского с сотрудниками (А. Мирский и С. Осава, 1963, и др.) свидетельствуют о возможности распространения через ядерную оболочку молекул ДНК, РНК, дезоксирибонуклеазы, рибонуклеазы, полиадениловой и полиакриловой кислот, полиэтиленсульфата, гепарина, хондроитинсерной кислоты и некоторых других полиэлектролитов. Вероятное проникновение в ядра из цитоплазмы богатых энергией моноклеозидтрифосфатов (АТФ и др.) отмечено выше. Согласно наблюдениям С. А. Нейфаха и сотрудников (1964), в том же направлении через ядерную оболочку проникает митохондриальный фактор, регулирующий интенсивность гликолиза в ядрах.

Определенного внимания заслуживают опыты, показавшие, что РНК, синтезированная из меченых предшественников в изолированных ядрах печени крыс, свободно выходит из ядер в окружающую их среду (Scholtissek, Poter, 1960; Scholtissek, 1962). Проникновение РНК из ядер печени крыс, изолированных по Шово, описано О. П. Самариной и И. Б. Збарским (1964).

Прямое доказательство проникновения РНК через ядерную оболочку получено также в следующих экспериментах: в цитоплазму предварительно энуклеированной амебы имплантировали ядро от другой амебы, предварительно содержащейся в среде с радиоактивным P^{32} . Благодаря этому РНК трансплантированного ядра оказалась меченой данным изотопом. Затем в разные интервалы времени после операции производили автордиографию оперированных амеб. Оказалось, что в начальной фазе эксперимента меченая РНК локализуется исключительно в трансплантированном ядре, однако позднее она появляется в возрастающей концентрации в цитоплазме. Поступление РНК в обратном направлении, т. е. из цитоплазмы в ядро, в этих опытах не наблюдалось. В другом варианте опыта автордиографически изучали амеб, в цитоплазму которых было трансплантировано по одному ядру после маркировки в них белка по S^{35} (предварительное пребывание таких амеб в среде с S^{35} -метионином). Было установлено, что радиоактивность постепенно перемещается из трансплантированного ядра в цитоплазму. Контрольные эксперименты исключили появление радиоактивности в цитоплазме амеб за счет свободного, не включающегося в состав белка метионина. Ввиду этого приведенные эксперименты в сопоставлении с изложенными выше позволили заключить о проницаемости ядерной оболочки не только для РНК, но и для белка, т. е. о возможности проникновения через нее рибонуклеопротеидов. Вместе

с тем в приведенных экспериментах была установлена возможность проникновения через ядерную оболочку белка и в направлении из цитоплазмы в ядро (Prescott, 1960).

Выход РНК из ядер в цитоплазму подтвержден в культуре ткани клеток млекопитающих путем ауторадиографии при использовании H^3 -уридина в качестве предшественника РНК. Оказалось, что в ядрах и ядрышках радиоактивная метка появляется уже через 2 минуты. В это время в цитоплазме она еще отсутствует, появляясь в ней лишь через 10 минут от начала опыта. К этому времени радиоактивность в ядрах и ядрышках снижается, по-видимому, вследствие перехода из них в цитоплазму (Monesi, Crippa, 1964).

Некоторые из приведенных выше опытов встретили возражения методического порядка. Так, например, указывали, что протамины и гистоны обладают известным альтерирующим действием и последнее могло в определенной мере обусловить проникновение этих веществ через ядерную оболочку. Как отмечено выше, в ряде опытов объектом исследования служили изолированные ядра. Не исключена, разумеется, некоторая степень их повреждения в процессе выделения, что также могло повлиять на результаты опытов. Однако при самой критической оценке отдельных опытов, из большого числа которых нами приведены лишь немногие (более подробно см. обзор А. С. Трошина, 1963), нет оснований сомневаться в достоверности всей совокупности наблюдений о проницаемости ядерной оболочки для большого числа веществ, в том числе и крупномолекулярных (гемоглобин, нуклеиновые кислоты и др.).

Учитывая сделанное заключение, следует вернуться к приведенным выше результатам электронномикроскопического изучения ядерной оболочки, в частности к данным о наличии в ней пор. Сопоставление этих морфологических данных с наблюдениями о значительной проницаемости ядерной оболочки послужило основанием для того, чтобы считать поры в ядерной оболочке путями осуществления обмена веществ между ядром и цитоплазмой, по которым, в частности, из ядра в цитоплазму поступает информационная РНК.

Некоторым подтверждением этой концепции служит известный параллелизм между количеством пор в ядерной оболочке и интенсивностью в клетке синтетических процессов. Соответствующие подсчеты показали, что в активно синтезирующих клетках количество пор может достигать 10 000 на одно ядро. Напротив, в ядродержащих эритроцитах птиц пор в ядерной оболочке очень мало или даже совсем нет, а по данным опытов с мечеными аминокислотами, синтез белка в ядрах таких клеток очень слабый.

Было высказано мнение, что в клетках, в которых поры имеются лишь во внутреннем листке ядерной оболочки, только он определяет проницаемость этой мембраны, наружный же листок выполняет чисто механическую функцию (Haguepaу, Bernhard, 1955).

Как отмечено выше, наружный слой ядерной мембраны непосредственно переходит в мембраны эндоплазматической сети, и, таким образом, веществам, проникающим из ядра в цитоплазму, достаточно проникнуть через внутренний слой ядерной мембраны, чтобы после этого сразу же попасть в полость эндоплазматической сети (см. рис. 68). Последняя же (см. главу V) может открываться на поверхности клетки. В результате создается непрерывный путь от поверхности клетки до перинуклеарного пространства, и этим путем, по данным цейтраферной микрокиносъемки, могут перемещаться некоторые вещества. В частности, это установлено для жировых капелек, которые в клетках кишечного эпителия обнаружены как в полостях эндоплазматической сети, так и в перинуклеарном пространстве. А. Мирский и С. Осава (1963) допускают, что этим путем к ядру могут непосредственно поступать многие диаминоакридиновые красители, хорошо окрашивающие в эксперименте ядра соответствующих клеток и не окрашивающие их цитоплазму до тех пор, пока клетки остаются жизнеспособными.

Излагая концепцию о порах ядерной оболочки в связи с проблемой обмена веществ между ядром и цитоплазмой, следует подчеркнуть, что указанные поры отнюдь нельзя рассматривать в качестве путей беспрепятственной циркуляции веществ. Несомненно, что для ряда веществ ядерная оболочка непроницаема. Так, например, из цитоплазмы овоцита лягушки в ядро не проникает бычий сывороточный альбумин с молекулярным весом порядка 65 000. Из цитоплазмы незрелых овоцитов *Sesgoria* γ -глобулин, меченный флюоресцеином, не проникал в ядро (Feldhegg, Feldhegg, 1960). Не обнаружено также проникновения в ядра овоцитов лягушки синтетической целлюлозы, гуммиарабика, гликогена. Однако особенно важно то, что непроницаемость ядерной оболочки для перечисленных выше веществ не может быть всецело объяснена только их сравнительно большим молекулярным весом. Дело в том, что в ряде случаев в ядро могут проникать относительно крупномолекулярные вещества (например, РНК), в то время как в аналогичных условиях более мелкие молекулы (например, субстратов цикла Кребса) сюда не поступают. Концепция о постоянном свободном обмене растворимыми ферментами между ядром и цитоплазмой (Siebert, 1961) встречает ряд возражений, поскольку, например, такой фермент, как щелочная фосфомоноэстераза,

содержащаяся в большом количестве в цитоплазме ряда клеток, в их ядрах практически отсутствует. В ядра клеток не проникают молекулы ряда экзогенных веществ (аденин-нуклеотиды), несмотря на то, что размеры их молекул меньше, чем диаметр пор в ядерной оболочке.

Согласно представлениям Mirsky (Fenster, Allfrey, Mirsky, 1962), аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, АТФ, а также некоторые кислоты (янтарная, лимонная) проникают в ядро благодаря активному транспорту их через ядерную оболочку, что регулируется ферментативно особыми пермеазами, находящимися в ядерной оболочке. Для активного транспорта через нее указанных веществ требуется наличие в среде определенных количеств ионов натрия; при его замене другими металлами проникновение веществ в ядро нарушается. Эти представления хорошо согласуются с ранее сделанными наблюдениями, что проникновение некоторых белков через ядерную оболочку подавляется цианидами и динитрофенолом, которые угнетают процессы, совершающиеся с потреблением энергии. В пользу представления об активной энзиматической природе процесса поступления веществ в ядро свидетельствуют, в частности, данные о зависимости проникновения через ядерную оболочку аминокислот от рН и температуры среды. Вместе с тем допускается, что поры в ядерной оболочке могут попеременно то открываться, то закрываться, в зависимости от чего проницаемость оболочки возрастает или, напротив, снижается.

В пользу воззрения о наличии ядер с истинными и «закрытыми» порами свидетельствуют эксперименты с изучением биоэлектрических свойств разных ядер с помощью микроэлектродов. С применением данной методики было показано (Каппо, Loewenstein, 1963), что оболочки гигантских ядер слюнных желез личинок дрозофилы обладают очень большим сопротивлением электрическому току, причем потенциалы ядра и цитоплазмы существенно отличаются.

Напротив, сопротивление электрическому току ядерной оболочки овоцитов лягушки *Xenopus laevis* и тритона *Triturus viridescens* очень низкое, и практически нет разницы между потенциалами ядра и цитоплазмы.

По мнению А. С. Трошина (1963), проницаемость ядерной оболочки, возможно, определяется совокупностью ряда взаимодействующих механизмов, например диффузии и активного мембранного транспорта. Выяснение этих конкретных механизмов представляет очевидный интерес.

В числе таких факторов определенное значение, по-видимому, имеет и проницаемость вещества, заполняющего поры

в ядерной оболочке. В пользу данного представления свидетельствуют результаты опытов с инкубацией изолированных ядер *Rana pipiens* в присутствии специальным образом при-

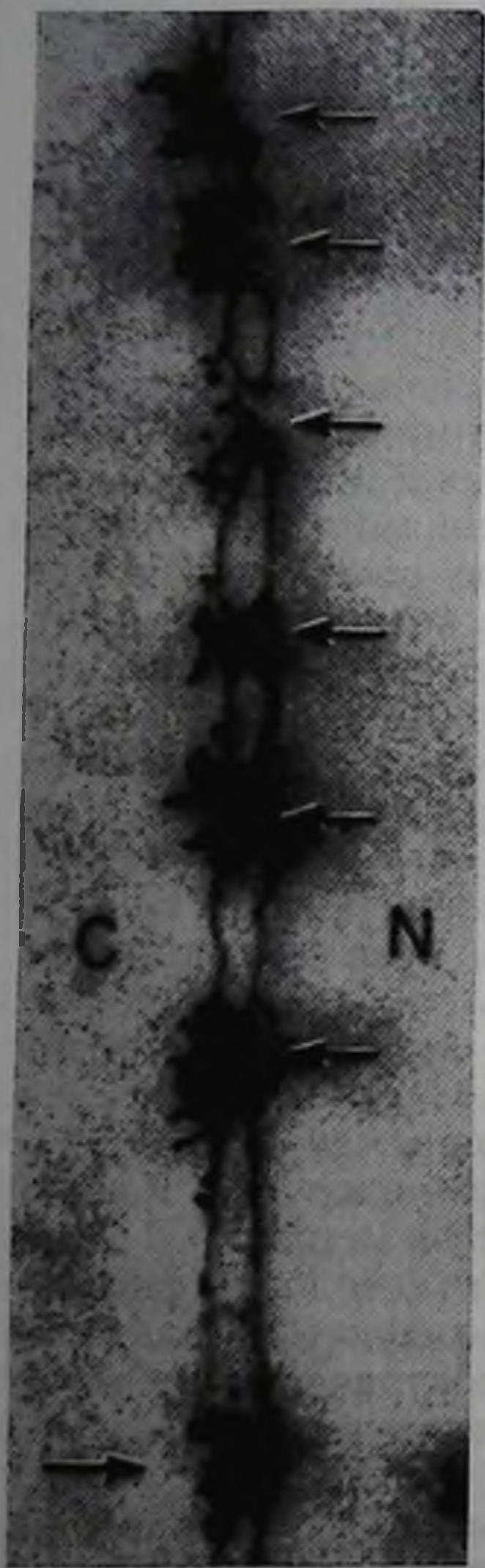


Рис. 69. Скопление частиц золота вдоль пор в ядерной оболочке (помечены стрелками). Внутри ядра частицы через вещество, заполняющее поры, не распространились. Увеличение $\times 18\,000$ (по Feldhegg, 1964).

N — ядро; *C* — цитоплазма.

готовленного коллоидального золота с размерами частиц 25—100 Å. Электронномикроскопически было установлено, что частицы золота концентрируются именно в области пор ядерной оболочке (рис. 69), но внутрь ядра некоторое время не проникают, хотя их размеры намного меньше диаметра пор. Препградой для их проникновения в ядро, вероятно, служило электронно плотное вещество, заполняющее поры ядерной оболочке (Feldhegg, 1964).

Приведенные наблюдения нам представляются принципиально важными, поскольку они устанавливают новый фактор проницаемости ядерной оболочке. Разумеется, на основании этих первых наблюдений преждевременно делать какие-либо далеко идущие выводы. Однако, если бы аналогичные данные были получены на достаточном количестве других объектов, то это потребовало бы радикального пересмотра представлений о механизме перемещения веществ через ядерную оболочку; на первый план будет выдвинуто не только (а может быть, и не столько) значение размеров пор ядерной оболочке, но и особенности находящегося в них вещества. Это представляется весьма заманчивым в свете данных о механизме проникновения веществ через клеточную оболочку (см. главу VIII).

По-видимому, проникновение веществ указанными выше способами дополняется и некоторыми иными механизмами обмена веществ между ядром и цитоплазмой. Так, наблюдается явление, напоминающее клазматоз: оболочка ядра образует мелкие выбухания, в которых находится мелкозернистое вещество. Предполагают,

что эти выбухания затем отшнуровываются от ядра и поступают в цитоплазму. По-видимому, этим способом образуются так называемые *annulate lamellae*, представляющие обычно группы параллельно расположенных уплощенных пузырьков с поперечником в 200—400 Å, окруженные однослойной мембраной. Как правило, мембраны *annulate lamellae* пронизаны порами, что сближает их с оболочкой ядра. Иногда на поверхности мембран расположены рибосомы, что свидетельствует об отшнуровке таких мембран от внутреннего листка ядерной оболочки. *Annulate lamellae* описаны в зародышевых клетках различных позвоночных и беспозвоночных, в некоторых соматических и даже раковых клетках. Отмечено проникновение *annulate lamellae* не только в цитоплазму, но и внутрь ядра. Допускают участие названных образований в обмене между ядром и цитоплазмой, что, впрочем, пока точно не установлено (Kessel, 1965).

При электронномикроскопическом изучении одноклеточных *Nactiluca scintillans* поры в их ядерной оболочке не обнаружены. Однако вблизи нее находится большое число пузырьков, которые в совокупности, тесно прилегая друг к другу, образуют подобие слоя. Стенки пузырьков образованы оболочкой, пронизанной порами. Допускают, что через эти поры в пузырьки поступают вещества из ядра. Затем такие пузырьки, по-видимому, проникают через ядерную оболочку, после чего содержимое пузырьков изливается в цитоплазму. Аналогичный процесс образования и отшнуровывания от ядерной оболочки пузырьков прослежен на овоцитах тритона (Wischnitzer, 1963).

Вместе с тем описаны картины, которые интерпретируют как проявления ядерного фагоцитоза, посредством которого ядро улавливает вещества из цитоплазмы (см. рис. 68).

При цейтраферной фазовоконтрастной микрокиносъемке овоцитов кузнечиков наблюдались ритмические пульсаторные движения интерфазных ядер, совершающиеся со скоростью 5—45 секунд. При каждом движении ядра смещались вокруг своей оси на 5—20°. Так как такие движения становятся наиболее выраженными с момента интенсивного накопления в цитоплазме желтка, то предполагают, что они облегчают поступление веществ из ядра в цитоплазму (Thamisiap и др., 1955). Сходные наблюдения сделаны в культуре ткани в отношении эпителия слизистой оболочки носа.

В профазе митоза ядерная оболочка, по-видимому, фрагментируется и сливается с компонентами эндоплазматической сети. Отмечено формирование новых ядерных оболочек в телофазе из элементов эндоплазматической сети.

ЯДРЫШКО

Строение, химический состав и происхождение. На обычным образом изготовленном гистологическом препарате ядрышко имеет вид гомогенного образования. В ядрышках некоторых клеток, в частности овоцитов, иногда видны вакуоли. Эти классические представления были значительно дополнены.

Используя методику микрокиносъемки после некоторых специальных приемов контрастирования живых клеток, П. И. Живаго (1948) установил, что основу ядрышка составляют особые нитевидные структуры («филлярное вещество»), в совокупности образующие сеть. Между нитями располагается гомогенное интерфиллярное вещество, маскирующее нитевидные структуры. Несколько позднее в принципе аналогичные данные получили Estable и Sotelo (1950) на разнообразном материале (яйцеклетки беспозвоночных, нервные клетки позвоночных, ряд растительных клеток и пр.) при прижизненной микрокопии и на препаратах, импрегнированных серебром по методу Estable.

Результаты электронномикроскопических наблюдений полностью подтвердили приведенные данные, выявив в составе ядрышек нитевидные структуры — нуклеолонемы, соответствующие «филлярному веществу», и находящуюся между ними гомогенную субстанцию. Электронная микроскопия ядер, подвергнутых солевому экстракциям, показала, что нуклеолонемы в свою очередь состоят из более элементарных нитей — нуклеонем толщиной около 80—100 Å. На нуклеонемах расположены гранулы диаметром около 150 Å (Г. П. Георгиев и Ю. С. Ченцов, 1963). Впрочем, нуклеолонемы выявлены не во всех изученных объектах. Так, например, они не обнаружены в ядрышках нейробластов кузнечика. У них ядрышки состоят из двух компонентов: гранул диаметром около 150 Å и гомогенного вещества. Последнее преимущественно расположено в центре ядрышек, а гранулы — по их периферии. Какой-либо мембраны, отграничивающей ядрышко от остального вещества ядра, при самых больших увеличениях электронного микроскопа, как правило, не обнаружено.

Около 25 лет назад было установлено наличие РНК не только в цитоплазме, но и в ядрышке (Caspersson, Schultz, 1939). Последующие многочисленные наблюдения не только подтвердили этот факт, но и показали его универсальность: в ядрышках самых разнообразных клеток цитохимически выявляется РНК, причем окрашивание устраняется рибонуклеазой. При цитофотометрии в ультрафиолетовых лучах ядрышки обнаруживают типичную кривую поглощения

с максимумами при 260 и 280 мμ, что характерно для рибонуклеопротеидов.

Результаты химического изучения ядрышек, изолированных из печеночных клеток и овоцитов морских животных, подтвердили наличие в ядрышках РНК. Оказалось, однако, что ее количество составляет всего около 3—5% общего сухого веса ядрышек. Не исключено, что такие, сравнительно низкие цифры содержания в ядрышках РНК объясняются частичной ее потерей в процессе экстрагирования.

Помимо РНК, в ядрышках содержится большое количество белка, причем, по отдельным данным, его содержание достигает 80—85% общего сухого веса ядрышек. Большинство этих белков, по-видимому, относится к фосфопротеидам. Гистоновые белки, наличие которых в ядрышках предполагал Caspersson, при последующих исследованиях не были обнаружены. В ядрышках содержатся также липиды, а из числа ферментов — нуклеозид-дифосфорилаза, фермент, участвующий в синтезе НАД, а по отдельным наблюдениям, помимо того, щелочная фосфатаза, аденозинтрифосфатаза, метафосфатаза, участвующая в метаболизме РНК, глюкозо-6-фосфатаза, специфическая холинэстераза, сукцинатдегидрогеназа; впрочем, наличие последней в ядрышках представляется сомнительным, так как для ядер в целом характерен анаэробноз.

Вопрос о наличии в ядрышках, помимо РНК, также и ДНК зачастую решается отрицательно и поэтому считают, что ДНК находится не в ядрышках, а в прилегающем к ним околядрышковом хроматине. Основанием для этого послужили данные, что при гистохимической реакции по Фельгену ДНК в ядрышках не выявляется, но вокруг ядрышек зачастую виден слой фельгенположительного хроматина. Иногда этот слой не сплошной и к ядрышку прилегают несколько фельгенположительных участков. Однако в последнее время появились наблюдения о наличии в истинных ядрышках ДНК. Так, O'Donnell (1961) после обработки водоросли *Spigoguga* РНК-азой наблюдала неполное исчезновение вещества ядрышек: в местах, где ранее имелась РНК, после указанной обработки появлялись полости различного размера и формы. Остававшееся между ними вещество давало положительную реакцию Фельгена. После воздействия одной ДНК-азой на ранее не подвергшиеся обработке РНК-азой ядрышки это вещество не выявлялось, но в местах его бывшей локализации появлялись мелкие полости, окруженные пиронинофильным веществом. После комбинированной обработки РНК-азой и ДНК-азой ядрышки становились едва различимыми, причем они не содержали ни пиронинофильного, ни фельгенположительного вещества.

Altmann, Stöcker, Thoenes (1963) исследовали ядрышки клеток печени крыс после дачи им тиоацетамида, под влиянием которого размеры ядрышек возрастают. Электронно-микроскопически после фиксации формалином в ядрышках обнаружена мелкогранулярная субстанция, тождественная по характеру зернистости и по ее значительной электронной плотности хроматину ядер. Эта субстанция располагается

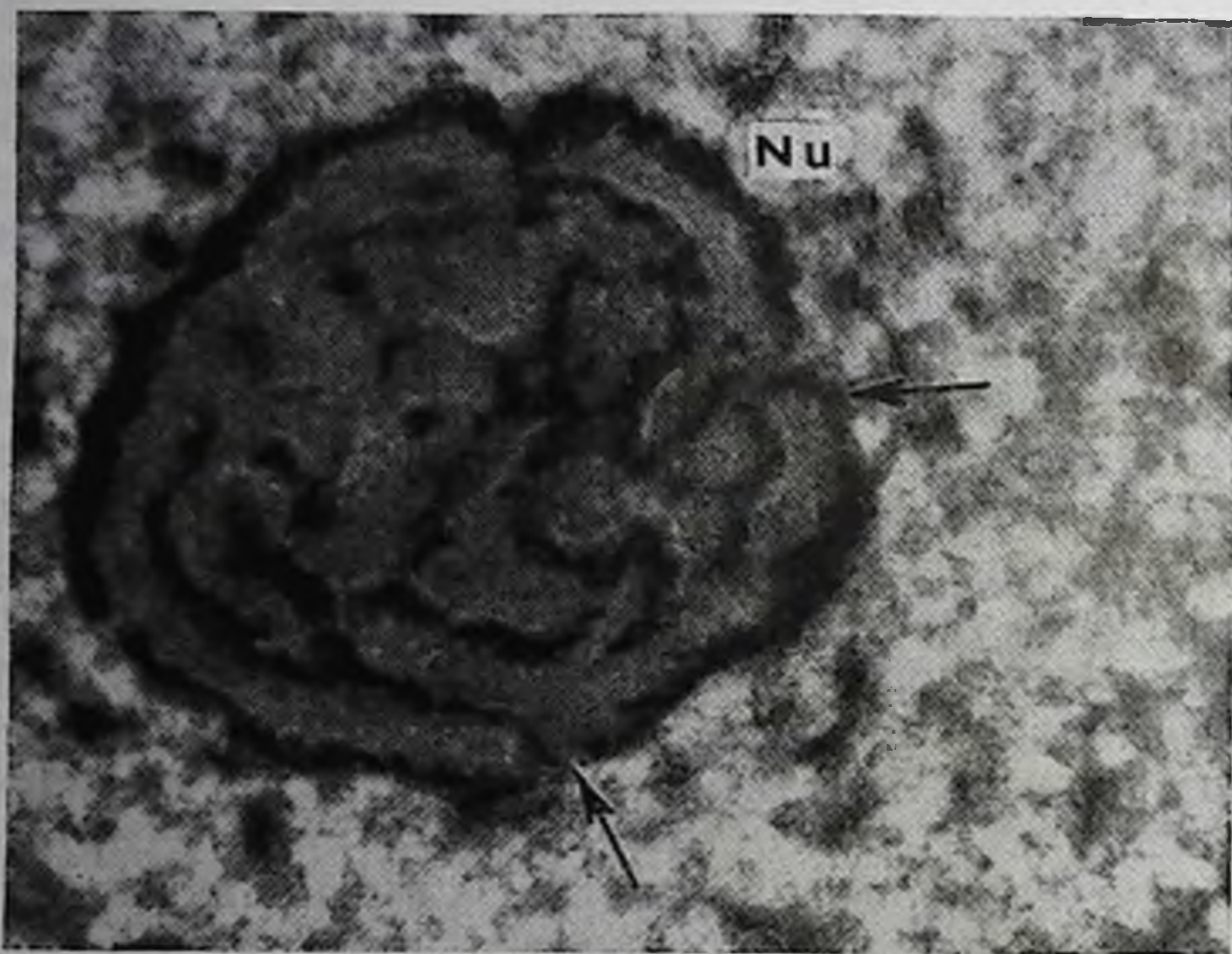


Рис. 70. ДНК-содержащие тяжи (помечены стрелкой) в ядрышке (Nu) клетки почек обезьяны после обработки РНК-азой. Увеличение $\times 40\,000$ (по Granboulan, 1964).

в ядрышках вне нуклеолоном в вакуолях различной формы и величины. При параллельно проведенном автордиографическом исследовании установлено включение трития, по которому был мечен тимидин, в вещество ядрышек. В увеличенных после введения тиоацетамида ядрышках клеток гепатом гистохимически выявлена фельгенположительная субстанция. На основании совокупности сделанных наблюдений авторы заключили о наличии в ядрышках ДНК. В ядрышках интерфазных ядер миобластов сердца куриных эмбрионов ДНК выявлена гистохимически (Weissenfels, 1964). ДНК обнаружена в ядрышках и при комбинированном электронно-микроскопическом и автордиографическом исследовании после введения тимидина H^3 (Hay, Revel, 1962; Granboulan, 1964) (рис. 70, 71).

Менее убедительными в этом отношении являются результаты химического исследования изолированных ядрышек. При таком исследовании в ядрышках печеночных клеток была выявлена ДНК. Однако нельзя исключить, что ее

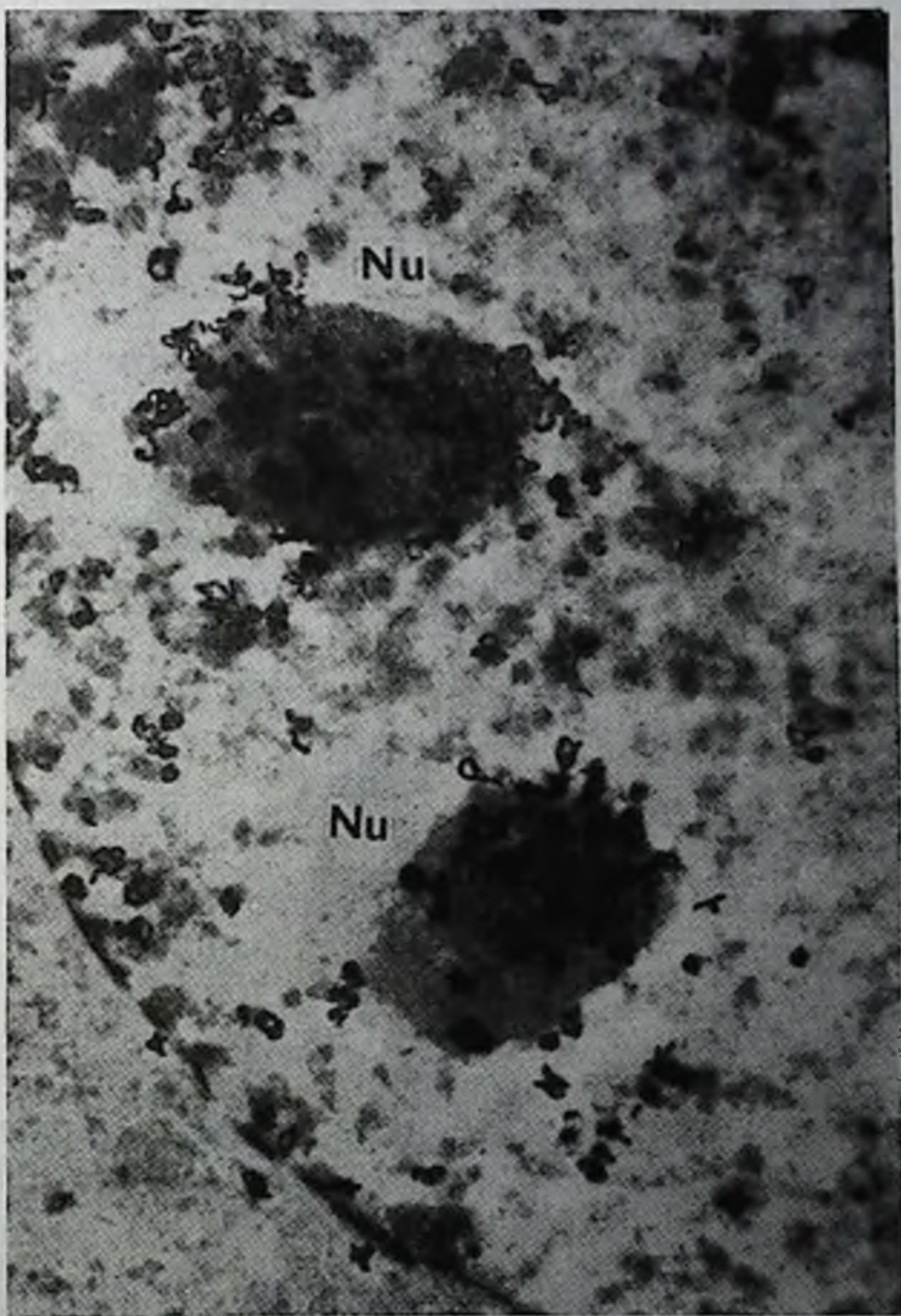


Рис. 71. Интенсивное включение тимидина, меченного тритием, в ядрышки клетки почки обезьяны. Электронограмма.

Nu — ядрышко. Увеличение $\times 25\ 000$ (по Granboulan, 1964).

обнаружение в данном случае могло обуславливаться примесью хроматина, зачастую окружающего ядрышки, т. е., иными словами, недостаточной чистотой исследованной ядрышковой фракции.

Как и в отношении других внутриклеточных структур, большое значение имеет сопоставление результатов электронномикроскопического, гистохимического и биохимического

го изучения ядрышек, особенно в случаях комбинированного применения этих методов (И. Б. Збарский, Г. П. Георгиев, 1962). В указанном отношении особого внимания заслуживают, с одной стороны, данные о нуклеонемах как основном субмикроскопическом компоненте ядрышка, а с другой — о наличии в нем цитохимически и биохимически выявляемых РНК и белка. Поскольку в клетках нуклеиновые кислоты комплексируются с белком, образуя нуклеопротеиды, на основании приведенных данных о химическом составе ядрышек можно говорить о рибонуклеопротеидах (РНП) ядрышка.

Сопоставление изложенных результатов изучения строения и химизма ядрышек привело к представлению, что элементарный структурный компонент — нуклеонемы — образованы белковыми молекулами, а расположенные на последних гранулы тождественны по своим размерам рибосомам и, подобно последним, содержат высокополимерную РНК рибосомального типа. Ввиду этого гранулы, расположенные на нуклеонемах, идентифицируются с рибосомами (Г. П. Георгиев, 1962). Наличие рибосом в ядрышках подтверждено рядом исследователей морфологически и биохимически (Vignstiel, Chipchase, Hyde, 1963, и др.).

Ядрышко в качестве оформленного морфологического образования существует лишь в определенные периоды жизнедеятельности клетки в интерфазе, исчезая в профазе и формируясь заново в телофазе каждого митоза. Таким образом, ядрышко не существует непрерывно на протяжении разных генераций клеток. Однако допускается, что при исчезновении ядрышка во время митоза его белки и РНК переходят на хромосомы и новое ядрышко не строится заново, а формируется из материала старого ядрышка, перешедшего на хромосомы. Иными словами, нуклеонемы сохраняются на протяжении всего клеточного цикла, лишь перемещаясь из ядрышка на хромосомы и обратно, т. е. лишь меняя локализацию (Estable, Sotelo, 1955). Часть нуклеонем остается в интеркинезе в составе так называемых остаточных хромосом (см. ниже). Высказано и другое представление, согласно которому все вещество ядрышка синтезируется заново в телофазе. Эта концепция поддерживается, в частности, на основании цитохимического изучения ядрышкообразования во время мейоза семяпочек некоторых растений (Е. С. Беляева и Л. В. Волкова, 1964). В пользу указанного воззрения свидетельствуют и наблюдения о новообразовании вещества ядрышек в конце митоза в нейробластах кузнечика.

На основании сравнительноцитологических исследований показано, что связь ядрышка с так называемыми спутнич-

ными хромосомами у растений обусловлена возникновением ядрышка из нити, соединяющей хромосому со спутником (Heitz, 1931). В этом участке конденсируется материал, вырабатываемый хромосомами, поэтому число ядрышек соответствует числу спутничных хромосом. McClintok (1934) была экспериментально установлена зависимость образования ядрышек от определенных участков хромосом, в частности у пшеницы от участка 6-й хромосомы, примыкающего к нити, соединяющей хромосому со спутником. Подобные участки названы ядрышковыми организаторами. Концепция Heitz — McClintok получила широкое распространение. Накопленный большой экспериментальный материал с несомненностью свидетельствует о связи образования ядрышка с хромосомами. При этом функция ядрышкового организатора, по-видимому, сводится либо к организации имеющегося ядрышкового вещества в оформленное ядрышко (И. И. Кикнадзе, 1961), если считать, что вещество ядрышка во время митоза не исчезает, либо к синтезированию и конденсации ядрышкового вещества, если допускать новообразование этого вещества.

Имеются наблюдения, что способность к образованию ядрышка свойственна не только ядрышковому организатору, но и другим участкам хромосом. Согласно Е. С. Беляевой и Л. В. Волковой (1964), ядрышко формируется за счет многих локусов всех хромосом. Наличие ДНК в ядрышках объясняют тем, что в них остаются участки хромосом, с которыми связан генез ядрышек (Altmann и др., 1963).

Функция. Представления о важной роли ядрышка в жизнедеятельности клетки были высказаны уже на основании старых наблюдений об определенном соответствии между размерами и количеством ядрышек, с одной стороны, и интенсивностью жизнедеятельности клеток — с другой. Так, например, было обращено внимание на исключительное обилие крупных ядрышек (до 1000) в растущих овоцитах амфибий в период активного накопления в их цитоплазме желтка. После достижения овоцитом зрелого состояния объемы ядрышек уменьшаются. Во время первых дроблений после оплодотворения, когда синтез белка почти не происходит, ядрышки не обнаруживаются.

У некоторых видов (многие ракообразные, насекомые) в периоде образования желтка в ядрах овоцитов ядрышки изменяются сравнительно незначительно. Однако при этом наблюдается массовое размножение или новообразование ядрышек специальных питающих клеток (трофоцитов), причем их ядрышки принимают такую же лентовидную форму, как и ядрышки в овоцитах амфибий. Указанные изменения ядрышек в трофоцитах чешуекрылых совпадают по времени

с началом интенсивной продукции желточных пластинок в растущих овоцитах. Таким образом, и в этом случае наблюдается определенная взаимосвязь между синтезом желтка и состоянием ядрышек, однако в данном случае не овоцитов, а трофоцитов (Б. В. Кедровский, 1959).

Известно и о значительном увеличении объема ядрышек в железистых клетках в периоде наиболее активного синтеза секрета.

Эти и многочисленные другие аналогичные данные привели к предположению о выработке ядрышками каких-то веществ, необходимых для белкового синтеза.

Обнаружив в ядрышках РНК и предположив связь между наличием РНК и синтезом белков, Caspersson (1950) выдвинул концепцию о центральной роли ядрышка в цитоплазматическом синтезе. Несмотря на то что теория Caspersson потребовала известного пересмотра и отдельные ее положения не подтвердились, основное представление о важном значении ядрышек получило в дальнейшем убедительное экспериментальное обоснование.

Так, использование радиоактивных изотопов, в частности P^{32} , показало, что в РНК ядрышка метка включается примерно в 10 раз быстрее, чем в РНК цитоплазмы, что свидетельствует об интенсивном синтезе РНК в ядрышке. Высокая скорость обновления РНК ядрышек подтверждает представление, что ядрышко является одним из основных мест синтеза РНК в клетке.

В этом отношении весьма показательны наблюдения, согласно которым во многих тканях началу продукции белка в цитоплазме предшествует повышение содержания РНК в ядрышке. Так, например, первичные половые клетки (гоноциты) грызунов вначале содержат большое количество РНК в ядрышке при низком содержании РНК в цитоплазме. Позднее содержание РНК в цитоплазме возрастает, оставаясь по-прежнему высоким в ядрышке. При помещении амёб в раствор рибонуклеазы значительная часть РНК расщепляется и ее содержание как в ядре, так и в цитоплазме становится намного ниже, чем у контрольных животных. Если же переместить таких амёб в обычную среду или в среду с добавленной к ней РНК, то синтез последней в ядрышке происходит значительно раньше, чем в цитоплазме. При последовательной автордиографии в разные сроки после помещения личинок дрозофилы в среду, содержащую радиоактивный урацил, было показано, что радиоактивность в первые часы опыта концентрируется в РНК ядрышка; позднее радиоактивность в ядрышке сохраняется, но она обнаруживается и в цитоплазме. Аналогичные результаты получены и в опытах с амёбами. Если предварительно уда-

лить ядра из таких амёб, то при последующем перенесении в среду с изотопом они перестают его аккумулировать.

При усилении секреторной активности коры надпочечника с помощью различных веществ в клетках пучковой зоны объем ядрышек возрастает на 280—330%, а объем ядер — всего на 40—80%. Резко увеличенные ядрышки характеризуются при этом высоким содержанием РНК.

Прямое подтверждение участия ядрышка в синтезе нуклеопротенидов получено в опытах с избирательным поражением ядрышка культивируемых *in vitro* фибробластов посредством микропучка ультрафиолетовых лучей. Оказалось, что при таком воздействии содержание нуклеопротенидов ядра снижается весьма значительно и становится гораздо меньше, чем в интактных ядрах или ядрах, подвергнутых облучению вне зоны расположения ядрышка. Было установлено также, что после поражения ядрышка микропучком ультрафиолетовых лучей значительно подавляется включение в РНК ядер и цитоплазмы аминокислот, меченных радиоактивными изотопами: в ядре оно снижается на 30%, а в цитоплазме — на 60—70% (Еггега, 1961).

Сходные данные получены и после облучения ультрафиолетовым микропучком ядрышек клеток HeLa. Было установлено, что включение H^3 -цитидина в хроматин ядра и в цитоплазму после указанного воздействия снижается соответственно на 30 и 70%. Иными словами, от функции ядрышка зависит синтез 70% всей цитоплазматической РНК и 30% ядерной. В развитие этих наблюдений была изучена интенсивность включения H^3 -цитидина в ядра и цитоплазму мышинных фибробластов линии L в присутствии актиномицина Д. В этих условиях включение метки в ядрышко и цитоплазму резко угнетено. Вместе с тем анализ выделенных из таких клеток РНК в градиенте сахарозы показал, что актиномицин Д уменьшает включение цитидина в быстро оседающую РНК с константой седиментации 38—45S, но не в РНК с константой седиментации 4S и не в полидисперсную РНК с константой седиментации 4—38S. На основании проведенных экспериментов сделан вывод, что в ядрышке синтезируется именно РНК с константой седиментации около 45S, а эта РНК является предшественником рибосомной РНК (Peggy, 1964).

В протоплазме клеток специально выведенных мутантов *Xenopus laevis*, ядра которых лишены ядрышек, не наблюдали синтеза рибосомной РНК. В протоплазме же клеток обычных особей *Xenopus laevis* синтез такой РНК осуществляется интенсивно (Brown, Gurdon, 1964).

Имея в виду изложенное, следует вернуться к приведенным выше наблюдениям об увеличении размеров ядрышек

в периоды усиления в клетках процессов синтеза. Недавно было показано, что интенсивность и скорость включения H^3 -I-фенилаланина (предшественник белка) и H^3 -цитидина (предшественник макромолекулярной РНК) в ядрышках пропорциональны их размеру (объему или площади поперечного сечения). Эти данные в сопоставлении с остальными, изложенными выше наблюдениями представляют еще один довод в пользу представления о роли ядрышка в клеточном обмене.

Определенного внимания заслуживают результаты прижизненных микроскопических исследований, установивших выход вещества ядрышка в цитоплазму. При витальной микроскопии с помощью фазовоконтрастного микроскопа в ядрышках, помимо нитевидных структур, видны вакуоли, количество которых в разных ядрышках и в разные периоды жизнедеятельности клетки колеблется. Наблюдение за поведением ядрышек показало, что вакуоли способны проникать из ядрышка вначале в ядро, а затем и в цитоплазму. В том же направлении может перемещаться и часть нитей, которые, по данным параллельно проведенного гистохимического исследования, преимущественно состоят из РНК, а вакуоли содержат белок.

Совокупность изложенных данных с очевидностью устанавливает важную роль ядрышка в нуклеопротеидном обмене в качестве одного из основных центров синтеза РНК.

С ролью ядрышка в синтезе РНК связывают и его участие в митозе. Согласно Goulden и Peggy (1958), облучение ультрафиолетовым микропучком одного из двух ядрышек нейробластов кузнечика нарушает нормальное течение митоза. Аналогичное облучение внеядрышковых зон ядра не вызывает такого действия. Однако имеются и данные о возможности наступления митоза при отсутствии ядрышка.

КАРИОПЛАЗМА

В вопросе о структуре содержимого интерфазного ядра до настоящего времени остается еще много дискуссионного, противоречиво трактуемого разными исследователями.

Можно считать несомненно установленным наличие в ядре жидкой фазы, так называемого ядерного сока, вытекающего из ядра при проколе ядерной оболочки. Жидкое содержимое ядра можно отсосать микропипеткой. В кариоплазме ряда объектов (клетки эпидермиса хвоста личинок тритона, яйцеклетки перловицы, лейкоциты, клетки тычиночных волосков традесканций и др.) было описано броуновское движение мелких частиц, свидетельствующее, что эти частицы нахо-

дятся в жидкости. Это же подтверждают и опыты по центрифугированию клеток. Такие эксперименты показали, что под влиянием центробежной силы ядрышки (или ядрышко) смещаются, не оставляя никаких следов своего движения. Возможность перемещения ядрышек благодаря тому, что они погружены в жидкий ядерный сок, весьма убедительно подтверждена следующими наблюдениями: в яйцеклетках морского рака *Naupagus amegianus* ядрышки расположены эксцентрично, ближе к стороне ядер, обращенной к вентральной поверхности животного. Если изменить положение яичника перед его фиксацией, то ядрышки будут смещены к новой, нижней стороне ядер. Вместе с тем, как указано выше, консистенция ядерного сока непостоянна. По некоторым данным, удельный вес ядерного сока и цитоплазмы почти одинаков.

В свое время интенсивно дебатировался вопрос, содержат ли ядра, помимо более или менее жидкого ядерного сока и ядрышек, какие-либо плотные структуры.

Как уже отмечено выше, после фиксации самых разнообразных объектов подавляющим большинством фиксаторов (исключая четырехокись осмия — см. ниже) на препаратах, окрашенных кислыми и основными красителями, в ядре выявляется довольно сложная структура. Ее основу образует так называемая ахроматиновая ядерная сеть, петли которой иногда имеют волокнистое строение, не окрашиваются основными красителями, но хорошо окрашиваются кислыми анилиновыми красками. По ходу петель и в особенности в местах их пересечения, располагаются различных размеров и формы глыбки хроматина, интенсивно прокрашивающегося основными красителями. При гистохимической реакции по Фельгену в хроматине выявляется ДНК (рис. 72).

Вместе с тем хорошо известно, что при прижизненном микроскопическом исследовании ядра большого числа клеток (яйцеклетки иглокожих, сперматоциты амфибий, клетки эпидермиса хвоста личинок тритона и многие другие) выглядят оптически однородными, «пустыми», и на фоне бесструктурного содержимого ядра видно лишь одно или несколько ядрышек. Аналогичный вид имеют ядра ряда растительных клеток.

Гомогенная кариоплазма, несколько более темная по сравнению с цитоплазмой, выявляется и при темнопольной микроскопии некоторых животных и растительных клеток.

Несоответствие картин, наблюдаемых при прижизненной микроскопии и на фиксированных и окрашенных препаратах, породило длительную дискуссию о реальности существования ядерного остова, а также и о его структуре. Данная дискуссия непосредственно связана с имеющим важное тео-

ретикулярное значение вопросом о непрерывности хромосом: отсутствуют ли они в интеркинезе, возникая при каждом митотическом делении заново (отрицание непрерывности хромосом), или хромосомы (либо их осевые нити — хромономы) в интерфазных ядрах сохраняются, хотя и водоизменяясь (признание непрерывности хромосом).

Так как обе концепции возникли в период, задолго предшествовавший появлению электронной микроскопии, то мы вначале изложим данные, полученные с применением светового микроскопа.

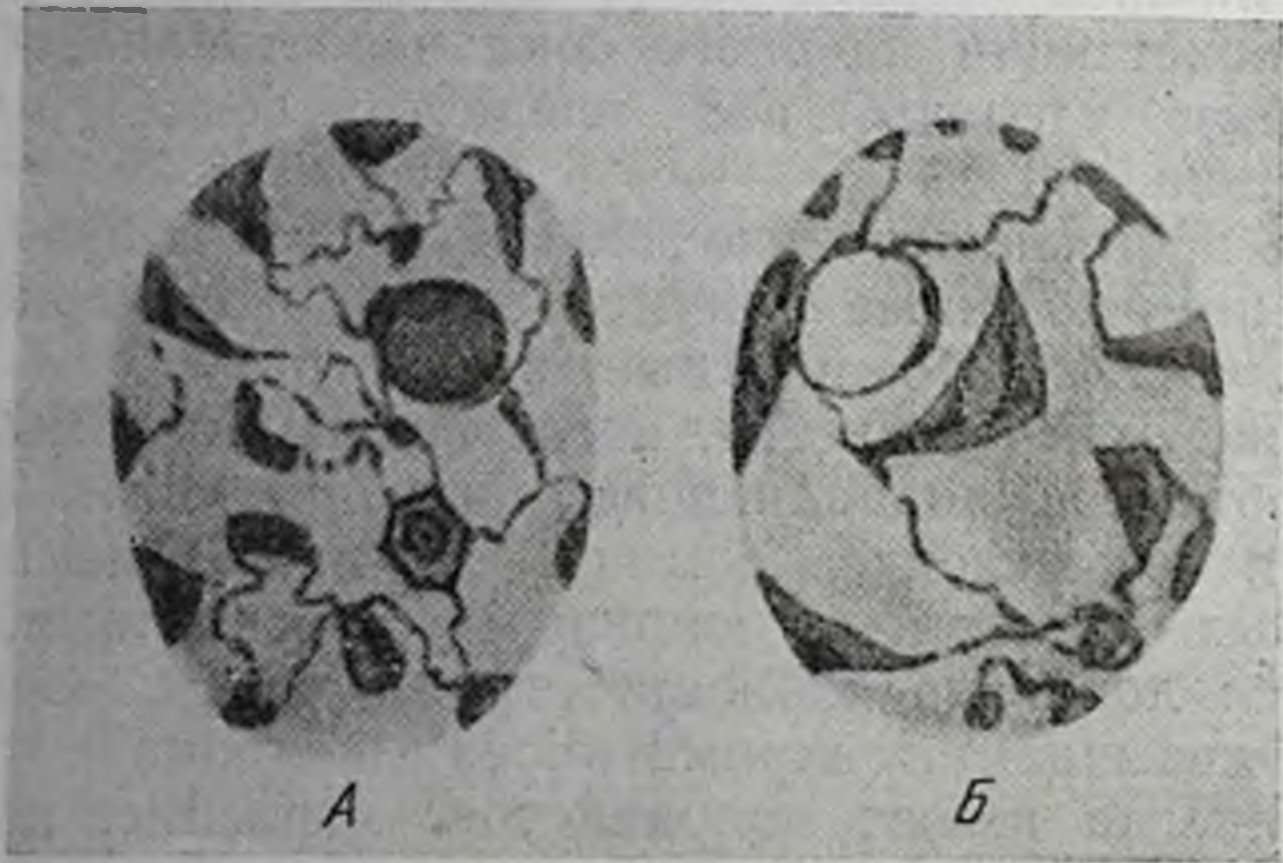


Рис. 72. Строение карิโอплазмы на фиксированном препарате.

А — окраска азаном; Б — реакция Фельгена.

По мнению сторонников концепции реального существования ядерного остова, последний прижизненно не видим вследствие недостаточной разрешающей способности светового микроскопа. При фиксации же на ядерном остове откладываются коагулировавшие под влиянием данного фиксатора вещества, вследствие чего его компоненты утолщаются и становятся видимыми. Известно также, что в некоторых ядрах, особенно растительных клеток, сетчатые структуры видны и прижизненно. Зачастую вместо них в растительных клетках определяются лишь разрозненные глыбки и зерна: их рассматривали в качестве узловых точек пересечения нитей, которые сами не видны вследствие очень небольшой толщины или вследствие того, что они обладают таким же лучепреломлением, как и ядерный сок. Таким образом, согласно данной концепции, в основе ядерного остова лежит реально существующая структура, однако в препаратах она резко утолщена и это ее огрубение представляет

своеобразный артефакт, не соответствующий прижизненному состоянию.

Freu-Wissling (1939) полагал, что вещества, коагулирующие под влиянием фиксаторов, откладываются на хромонемах, которые сохраняются в интерфазных ядрах и определяют их структурированность. По мнению Lewis (1947), а также Ris и Mirsky (1949), хромосомы не исчезают по окончании митоза, они лишь набухают и деформируются. Плотнo прилегая друг к другу, такие измененные хромосомы обуславливают картину ядерного остова.

Противники данной концепции исходят прежде всего из результатов прижизненных микроскопических исследований, при которых, как уже отмечено выше, наблюдается бесструктурность содержимого большого числа ядер. Известно, что под влиянием некоторых агентов (например, слабых растворов уксусной кислоты) в гомогенных до того ядрах становятся видными отдельные глыбки, которые при продолжающемся действии данного агента могут в совокупности образовывать типичную ядерную сеть. Это явление, согласно данной концепции, рассматривается не как следствие проявления ранее невидимого ядерного остова, а как новообразование ядерных структур вследствие повреждающего действия соответствующего вещества (см. главу XIV).

Другой довод сторонников концепции бесструктурности кариоплазмы состоял в том, что после фиксации клеток четырехокисью осмия, которая не вызывает коагуляции белков, в ядрах отсутствуют структуры, напоминающие ядерный остов. Он проявляется при воздействии на клетки перед их фиксацией осмием альтерирующими агентами (кислоты, спирты и пр.).

На основании этих и других наблюдений П. В. Макаров (1958, 1960) заключил, что нельзя приписывать всем ядрам структурированность; ядерные структуры могут появляться или исчезать в зависимости от функционального состояния клеток, не представляя, таким образом, преформированных образований.

Однако ряд доводов, выдвигаемых сторонниками бесструктурности кариоплазмы, встречает серьезные возражения. Оптическая гомогенность ядер при витальной микроскопии не исключает наличия в них каких-либо структур, так как эти структуры могут обладать такими же оптическими свойствами, как и жидкая фаза. Оптическая однородность ядер в клетках эпидермиса чешуи лука наблюдается не в норме, а под влиянием механических воздействий (В. Я. Александров и М. Н. Грузова, 1960). Следует более критически оценивать достоинства четырехоксида осмия в качестве фиксатора, так как она разрушает некоторые структуры клетки и

прежде всего богатые нуклеопротеидами (Baigatti, Lemay, 1954). В некоторых ядрах (например, в так называемых бантовидных) хромосомы видны и в интеркинезе (см. рис. 77). Такие ядра становятся внешне бесструктурными при воздействии на них сахарозы, т. е. под влиянием определенного внешнего воздействия. В ядрах слюнных желез *Diptera* прижизненно описаны такие же структуры, как и на фиксированных препаратах. В клетках крови позвоночных прижизненно выявляются: у аксолотля — большие цилиндрические хромосомы, у тритона — нити, у цыпленка — глыбки, напоминающие хроматиновые.

При повторных повреждениях ядра картина возникающей при этой его структурированности идентична наблюдаемой при предыдущих обратимых повреждениях. Такая стереотипность морфологического проявления ответной реакции данного ядра на его повторные повреждения рассматривается в качестве косвенного доказательства наличия ядерных структур: их существование предопределяет характер возникающей структурированности.

Мы не останавливаемся на других убедительных данных, которые служат веским возражением против концепции бесструктурности кариоплазмы интерфазных ядер.

При использовании методов электронной микрокопии в интерфазных ядрах ряда клеток не обнаружено каких-либо образований, которые можно было бы рассматривать в качестве компонентов хромонем или хромосом. Такие ядра заполнены мелкозернистым веществом, местами образующим большие или меньшие скопления. Не исключено, однако, что указанные гранулы могут представлять поперечные сечения нитевидных структур, которые на всем их протяжении на ультратонких срезах не выявляются. Не исключено также, что полученные результаты обусловлены недостаточно совершенной методикой изготовления препаратов для электронной микрокопии. Действительно, недавно было показано, что при использовании обычных методов фиксации осмием в ядрах клеток асцитного штамма, опухоли Эрлиха какие-либо нитевидные структуры не видны. Однако они выявляются при использовании наиболее адекватно сохраняющего прижизненную структуру метода замораживания — высушивания с последующей обработкой ядер реактивами, связывающими белки (1,5-двухлористый, 2,4-динитробензол, 3,4-диметилгександиол и др., Mundsig, 1964).

Вместе с тем даже при использовании обычных методов изготовления препаратов в ядрах некоторых клеток электронномикроскопически выявляются нитевидные структуры. Так, в ядрах клеток золотой рыбки, лягушки, жабы наряду с гранулами диаметром 100—160 Å имеются и микрофиб-

риллы, образующие сеть. В ядрах амебы *Amoeba proteus* описаны клубки деспирализованных нитей толщиной около 70 Å; длина нити равна 2500—3500 Å, а в распрямленном состоянии—7500 Å; промежутки между ними заполнены диффузно расположенными фибриллами. В интерфазных ядрах клеток меристемы лука, соматических клеток традесканций, клеток теки ячеников *Triturus* и некоторых других клеток обнаружены двойные нити толщиной около 200 Å. В ядрах материнских клеток пыльцы, *Gasteria trigona*, *Paeonia tenuifolia*, *Lilium caudatum*, *Agapanthus unbelatus* имеются нити толщиной 115—120 Å. Предполагают, что они образованы благодаря спирализации нитей толщиной 20—30 Å. В ядрах клеток виноградной улитки выявлены нити диаметром 100 Å, которые рассматриваются в качестве деспирализованных хромонем. В ядрах молодых сперматид *Chortophoga* и *Romalea* обнаружены нити толщиной 200—250 Å, которые в свою очередь слагаются из двух субфибрилл диаметром около 100 Å; при удлинении ядер толщина субфибрилл уменьшается до 40 Å. В ядрах молодых сперматид некоторых моллюсков, насекомых, рыб, птиц и других животных содержатся фибриллы толщиной 100 Å, причем каждая фибрилла состоит из двух субфибрилл толщиной 40 Å.

Сходные данные получены и при изучении некоторых других клеток. Так, хроматиновые образования в ядрах карциносаркомы Уокер представлены фибриллами толщиной 40—80 Å, равномерно заполняющими ядро. В ядрах аденокарциномы мыши выявлены пучки тонких волокон диаметром 70—90 Å по периферии ядра. А. А. Прокофьева-Бельговокая (1961) наблюдала в сперматидах нитевидные структуры толщиной 150—200 Å, которые на более поздних стадиях сменяются более тонкими — с поперечником 40—50 Å. Такие нити с поперечником около 40 Å электронномикроскопически, вероятно, тождественны молекулам ДНК.

При комбинированном электронномикроскопическом и автордиографическом исследовании клеток регенерирующих участков конечности саламандр в интерфазных ядрах выявлены молекулы ДНП, имеющие вид нитей толщиной 50—75 Å. Эти нити равномерно заполняют кариоплазму. В период синтеза ДНК радиоактивная метка (третий, меченный тимидином) появляется в этих нитях уже через час после инъекции. При митозе указанные нити ДНП образуют в хромосомах густую сеть, в компонентах которой радиоактивная метка появляется лишь через 6 часов после введения животному изотопа. Различие в скорости включения трития, меченного тимидином, в ДНП интерфазных ядер и в хромосомы интерпретируется как доказательство формирования

хромосом из нитей ДНП, диспергированных в интеркинезе по всему ядру.

При электронномикроскопическом исследовании ядер, изолированных сахарозно-глицерофосфатным методом и зафиксированных осмием, в ядрах выявляются лишенные гранул нити диаметром около 80 Å. Указанные нити исчезают после обработки препаратов ДНК-азой и 2М NaCl, широко используемых в биохимических исследованиях для экстракции ДНП. Ввиду этого нити рассматриваются в качестве молекул ДНП, в пользу чего свидетельствуют и параметры нитей (80—100 Å), близкие к таковым спирализованных молекул ДНП (Г. П. Георгиев и Ю. С. Ченцов, 1963).

Подытоживая изложенное, следует подчеркнуть, что ни при световой, ни при электронной микроскопии в интерфазных ядрах большинства клеток хромосомы в качестве микроскопически оформленных структур пока выявить не удалось.

Вместе с тем результаты электронномикроскопических наблюдений в сопоставлении с данными биохимических исследований и цитогенетики убедительно обосновывают представление о наличии в интерфазных ядрах элементарных компонентов хромосом — нитевидных структур, представляющих комплексы ДНП.

В совокупности эти ДНП-комплексы образуют светооптически видимый на фиксированном и окрашенном препарате хроматин, сходный по химическому составу с хромосомами. Таким образом, хроматин может рассматриваться как химический эквивалент хромосом, которые в виде оформленных образований с определенной генетической структурой в большинстве случаев обнаруживаются не в интерфазе, а при митозе.

Структурная идентичность вещества хромосом и хроматина описана при электронной микроскопии синхронизированных культур клеток HeLa. Во время митоза в указанных клетках видны хромосомы, имеющие вид анастомозирующих неправильной формы образований, которые состоят из сравнительно плотно прилегающих друг к другу гранул диаметром 100—150 Å и сети волокон с поперечником 45—100 Å. Соотношение гранулярного и зернистого компонента варьирует не только в разных клетках, но и в разных хромосомах одной клетки. При переходе от митоза к интеркинезу наблюдается лишь более разрыхленное расположение (деконденсация) зернистого и нитевидного вещества, располагающегося преимущественно вдоль ядерной оболочки, вокруг ядрышка и в отдельных участках кариоплазмы. В промежутках между такими участками встречаются те же нити и гранулы, но на еще больших расстояниях друг от друга. Переход от митоза к интеркинезу не сопровождается какими-

либо изменениями структуры гранул и нитей (Blondel, Tolmach, 1965).

Эти и сходные наблюдения убедительно аргументируют представления о переходе вещества хромосом по окончании митоза в интерфазные ядра дочерних клеток.

Как известно, перед каждым последующим делением клетки происходит редупликация молекул ДНП (о синтезе ДНК и белка в интерфазных ядрах см. выше и главу X). Эта редупликация, согласно схеме Уотсона и Крика, происходит таким образом, что две полинуклеотидные цепочки, образующие двойную спираль молекулы ДНК, отделяются друг от друга и воспроизводят по шаблону партнера. Образовавшаяся молекула ДНК состоит из предсуществующей и из тождественной ей новообразованных нитей (цепочек). Каждая из таких молекул ДНК, образуемая вместе с белковыми молекулами комплекс ДНП, вновь войдет в состав хромосом при следующем митотическом делении и т. д. Признание этого положения о сохранности молекул ядерной ДНК в интеркинезе и об обеспечении ими преемственности поколений имеет важнейшее принципиальное значение.

Помимо молекул ДНП в ядрах, как отмечено выше, содержится и РНК. Цитохимически ее удается выявить, в частности, после экстрагирования нефиксированных срезов тканей 0,4 М NaCl, при котором из ядер удаляется ядерный сок, а распределение ДНП в ядре становится диффузным. При этом в ядрах светооптически выявляются истонченные, так называемые остаточные хромосомы, дающие, подобно ядрышку, положительную цитохимическую реакцию на РНК (И. Б. Збарский и Г. П. Георгиев, 1962). На основании сопоставления этих данных с результатами электронномикроскопических исследований допускают, что остаточные хромосомы состоят из нитевидных структур, тождественных нуклеонемам ядрышка, с которыми они сходны и по растворимости (Г. П. Георгиев и Ю. С. Ченцов, 1963). На этих нитевидных структурах, а частью и вне связи с ними, располагаются гранулы диаметром около 150 Å.

Эти гранулы электронномикроскопически сходны с рибосомами цитоплазмы. Вместе с тем при ультрацентрифугировании из ядерного сока были выделены две фракции гранул, отличающихся друг от друга по их удельному весу; в более легкой фракции выявлены гранулы диаметром порядка 150 Å, в более тяжелой — с вдвое большим диаметром. Первая фракция условно обозначена как «ультрамикросомная», вторая — как «микросомная». Параллельно было установлено, что обе эти фракции содержат высокополимерную РНК, типичную для рибосом. На основании этих дан-

ных был сделан вывод, что гранулы, электронномикроскопически выявляемые в ядрах, действительно представляют собой рибосомы, причем не исключено, что более крупные из них, входящие в «микросомную» фракцию, возникают вследствие ассоциации более мелких, попадающих при ультрацентрифугировании в более легкую — «ультрамикросомную» фракцию (Г. П. Георгиев, 1962; Г. П. Георгиев и Ю. С. Ченцов, 1963) ¹.

Учитывая изложенные данные, можно допустить, что в ядре синтезируются все три типа РНК. Вероятно, синтез высокополимерной РНК осуществляется на молекулах ДНП при участии фермента РНК — полимеразы, которая входит в состав ДНП и прочно связана с ДНК. На нуклеонемах же происходит синтез РНК ГЦ-типа и, в частности, рибосомной РНК. Сопоставление скорости включения аминокислот в белки ядрышка и скорости синтеза рибосомной РНК позволяет предполагать образование на нуклеонемах не только рибосомной РНК, но и целых рибосом или их предшественников (Г. П. Георгиев, 1962; М. И. Лерман, В. Л. Мантьева, Г. П. Георгиев, 1964). Наличие в клеточных ядрах рибосом хорошо согласуется с изложенными выше представлениями об активном синтезе в ядрах белка, поскольку общепринято считать, что полипептидные цепочки образуются из активированных аминокислот именно на рибонуклеопротеидной матрице рибосом.

Половой хроматин. В заключение данного раздела следует отметить, что при выявлении в интерфазных ядрах ДНК по Фельгену, а также при окраске таких ядер рядом основных красителей (гематоксилином, тионином, кризоловым фиолетовым и др.) в ядрах самых различных клеток человека и животных выявляются мелкие тельца, расположенные свободно в нуклеоплазме, под ядерной оболочкой или в непосредственной близости от ядрышка. В первом случае тельца имеют более или менее сферическую или округлую форму, во втором — зачастую приближаются к треугольной, обращенной вершиной к ядрышку, а уплощенной поверхностью к ядерной оболочке, в третьем — дисковидную.

Первоначально указанные тельца обозначали как сателлиты ядрышка; позднее они получили название полового хроматина, поскольку было установлено неодинаково частое их обнаружение у самок и самцов.

Впервые половой хроматин обнаружен в нервных клетках кошек (Вагг, Верграм, 1949); в аналогичных клетках котов он отсутствовал (рис. 73). Половой хроматин выявлен

¹ Имеются данные, что ядерные рибосомы, подобно цитоплазматическим, состоят из нескольких более мелких субъединиц диаметром около 40 А.

во всех исследованных клетках человека, причем у женщин он встречался в 62—82% клеток, а у мужчин — лишь в 1—21%. Таким образом, наименьшая частота обнаружения полового хроматина у женщин оказалась в 3 раза выше наибольшей частоты выявления полового хроматина у мужчин. В дальнейшем было установлено, что в мазках из соскобов ротовой полости половой хроматин у женщин встречается в 20—80% клеток, а у мужчин — в 0—4%¹.

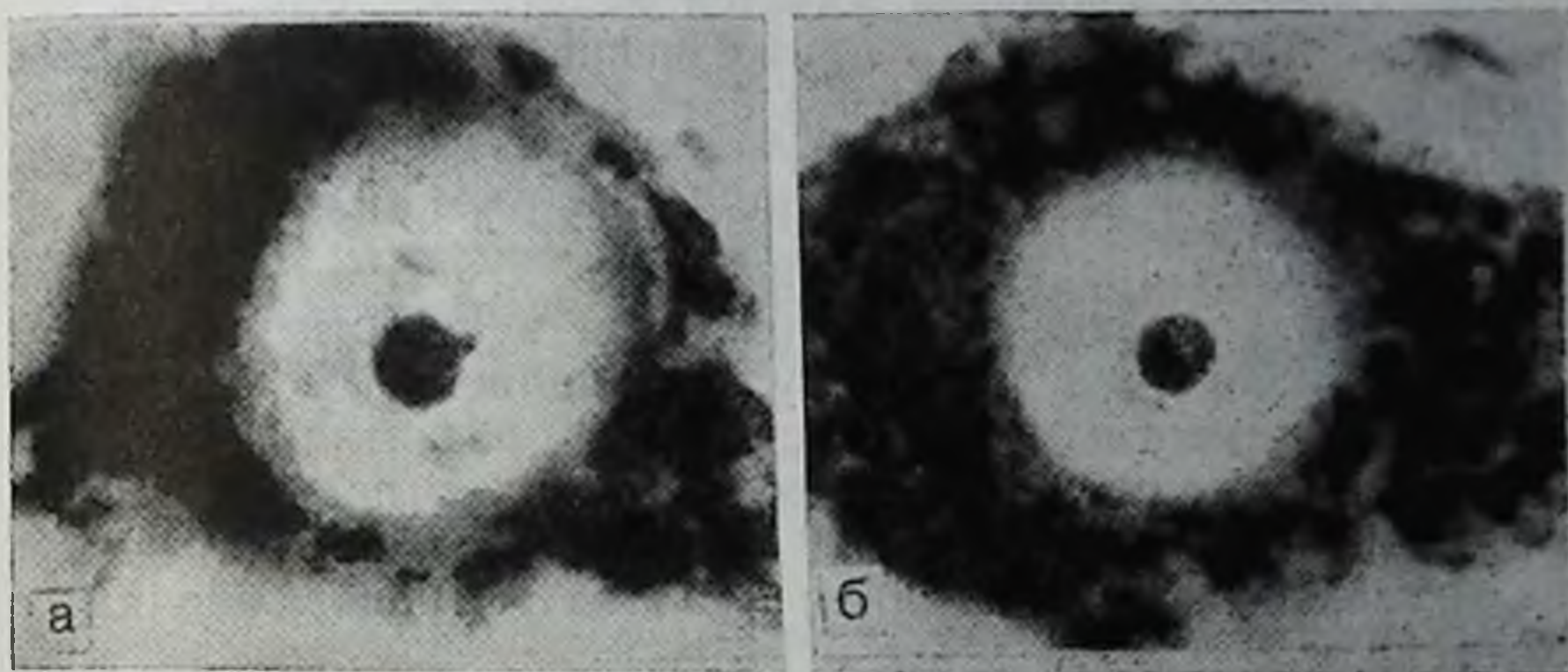


Рис. 73. Половой хроматин (околоядрышковая глыбка) в нервной клетке кошки (а). В ядре самца (б) половой хроматин отсутствует. Увеличение $\times 1200$ (по Вагг и Вертрам, 1949).

Согласно наблюдениям А. В. Капустина (1964), исследовавшего разнообразные органы (головной мозг, легкие, миокард, печень, почки, селезенку, кожу, скелетную мускулатуру), половой хроматин около ядерной оболочки наблюдается у женщин в 31—77% клеток, а у мужчин — в 0—14%. В ядрах эндотелия и соединительнотканых клеток ворсин плаценты такой половой хроматин содержится в плацентах мальчиков в 0,7—13% клеток, а в плацентах девочек — в 24—60%. У кошек половой хроматин около ядерной оболочки встречается в 31—72% клеток, а у котов — в 0—9%. Околоядрышковый хроматин, имеющий вид крупных глыбок, обнаружен в ядрах 33—74% клеток женщин и в ядрах 2—19% клеток мужчин. У кошек и котов эти цифры равны соответственно 38—75 и 0—16% (исключая сердечную мышцу, в которой околоядрышковый половой хроматин определяется у кошек в 23—25% ядер).

Существенно, что половой хроматин выражен уже у эмбрионов человека длиной 18—155 мм; при этом у эмбрионов

¹ В нейтрофильных лейкоцитах половой хроматин имеет вид небольшого добавочного сегмента ядра, обозначаемого как барабанная палочка.

женского пола он имеется в 30—50% клеток, а у эмбрионов мужского пола — только в 10% (Bagg, Bergam, 1949). Имеются данные об обнаружении полового хроматина со стадии поздней бластулы — ранней гаструлы.

Половой хроматин содержится у самых различных животных, причем размеры его частиц, как и у человека, относительно постоянны и их поперечник равен приблизительно 1 μ . Половой хроматин находится и в клетках культур тканей, однако по мере пассирования он может постепенно исчезать. Половой хроматин удается видеть не только на окрашенном препарате, но и прижизненно в клетках тканевых культур. Однако в этом случае частота его обнаружения несколько меньшая: например, в фибробластах женщин половой хроматин определяется прижизненно в 50% клеток, а после фиксации (исключая фиксацию OsO_4) — в 70—80%.

Половой хроматин рассматривается в качестве генетического признака пола, поскольку он появляется у эмбрионов человека и животных на той стадии их развития, когда какие-либо другие признаки дифференциации пола еще не выражены. Половой хроматин не исчезает после кастрации и не изменяется под влиянием половых гормонов, вводимых в организм.

Количество глыбок полового хроматина увеличивается в полиплоидных ядрах, причем одна глыбка соответствует одному диплоидному набору хромосом (Klinger, Schwarzacher, 1958). По данным А. В. Капустина (1964), наличие двух глыбок полового хроматина свидетельствует об аномалиях хромосомного набора лишь в случаях, когда обе глыбки полового хроматина прилежат к оболочке ядра и встречаются в значительном проценте ядер.

Большой интерес представляет вопрос о причинах появления в ядрах клеток полового хроматина. У самок разных видов животных, имеющих половой хроматин, в ядрах клеток обнаруживают две крупные X-хромосомы. Предполагают, что половой хроматин образуется вследствие слияния гетерохроматических участков названных двух хромосом. У самцов же наряду с одной крупной X-хромосомой в ядрах клеток имеется и одна мелкая Y-хромосома. Согласно данной концепции, совокупность гетерохроматических участков X- и Y-хромосомы у самцов недостаточна для формирования гистохимически различимого тельца.

Однако данное предположение отвергается некоторыми авторами на том основании, что у отдельных птиц с женской гетерогаметностью самки имеют в ядрах X- и Y-хромосомы, тем не менее у них обнаружен половой хроматин; у самцов тех же птиц его нет, хотя в их клетках содержится по две X-хромосомы.

В последнее время образование полового хроматина связывают с наличием в клетках поздно удваивающейся хромосомы, которая напоминает по форме X-хромосому. Эта хромосома, по данным авторадиографического исследования, включает значительное количество тимидина, меченного тритием. В клетках мужских особей поздно удваивающаяся X-хромосома в большинстве случаев отсутствует, в клетках женских особей таких хромосом на одну меньше общего числа X-хромосом. Например, при наличии двух X-хромосом (нормальный набор) поздно удваивающаяся X-хромосома одна и соответственно в ядре имеется одна глыбка полового хроматина (У. Миттвох, 1964).

Дальнейшее изучение полового хроматина, исследование которого имеет большое практическое значение при определении пола, назначении рациональной гормональной терапии и пр., может сыграть важную роль для уточнения представлений о строении кариоплазмы интерфазных ядер.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЯДРА

Вопрос о функциональном значении клеточных ядер требует отдельного рассмотрения в двух аспектах: с точки зрения передачи генетической информации от материнской клетки к дочерней (т. е. от одной клеточной генерации к другой, а от нее к последующим) и с точки зрения роли ядра для жизнедеятельности данной клетки, находящейся в интерфазе. Поскольку эта глава посвящена интерфазному ядру, то мы рассмотрим здесь лишь второй из указанных аспектов. Что касается первого из них, то соответствующие сведения о важном генетическом значении ядерного вещества — его ДНК, входящего в состав хромосом при митозе, приводятся в главе X. Общие данные по этому вопросу изложены выше — в разделе о кариоплазме.

Представления о важном значении ядер для жизнедеятельности клеток получили убедительное экспериментальное обоснование еще в 70—80-х годах прошлого века на основании наблюдений над некоторыми простейшими. Было установлено, что если разрезать ресничную инфузорию *Oxytricha* или *Stentor* на две половины так, чтобы неповрежденное ядро осталось в одной из них, то последующее поведение обеих половин будет неодинаковым; ядродержащая часть регенерирует и полностью восстановит первоначальную форму инфузории, безъядерная же погибнет. Показательно, что ядродержащий фрагмент инфузории сохраняет способность к регенерации в случае, если его объем не превышает даже $1/64$ нормального размера животного. Ядродержащие

участки фораминифер могут восстанавливать раковину в отличие от безъядерных. Весьма существенны наблюдения, показавшие, что лишенные ядра фрагменты некоторых простейших (*Lachnophytia*) и жорноножек (*Polystomella* и др.) сравнительно длительное время остаются жизнеспособными, причем они могут захватывать пищу, совершать нормальные характерные движения, реагировать на раздражения. Однако в них не происходит переваривания пищи, и они лишены способности к секреции веществ, необходимых для построения новой раковины или слизи, с помощью которой прикрепляются к субстрату. Лишенные целлюлозной оболочки протоплазматические фрагменты ряда водорослей не способны образовать новую целлюлозную оболочку. Лишенные ядер фрагменты *Zygnema* и *Oedogonium* некоторое время остаются жизнеспособными, но они не могут регенерировать и утилизировать крахмал (Э. Вильсон, 1936).

О значении ядер для жизнедеятельности клеток свидетельствует и следующее наблюдение из области экспериментальной цитопатологии: облучение ядродержащих амёб с помощью пучка ультрафиолетовых лучей вызывает тяжелые нарушения жизнедеятельности таких организмов. Если же после указанного воздействия амёбу энуклеировать и взамен удаленного пересадить в нее не подвергавшееся облучению («здоровое») ядро, то признаки поражения цитоплазмы исчезнут. Если же в амёбу, не подвергавшуюся предварительно лучевому воздействию, внести предварительно облученное ядро, то в цитоплазме появятся определенные изменения; они не разовьются при имплантации ранее не облученного ядра.

При анализе результатов приведенных опытов обращают на себя внимание два обстоятельства: 1) лишенная ядра клетка или ее безъядерный фрагмент погибает не сразу; гибель наступает лишь через определенное время; оно относительно продолжительно и исчисляется днями и даже десятками дней; 2) несмотря на то, что клетка после энуклеации сразу не погибает, ряд ее функций существенно нарушен.

Прежде всего это касается протекающих в клетках процессов синтеза, о чем свидетельствует прекращение выработки слизи, веществ для построения новой раковины и пр.

Для объяснения причин продолжающегося некоторое время существования клеток, лишенных ядер, в свое время была выдвинута теория замещения (Mazia, 1952). Согласно этой гипотезе, ядро находится в состоянии непрерывной активности, все время продуцируя в цитоплазму ряд веществ. После энуклеации эти ядерные продукты расходуются не сразу, а постепенно, используясь в процессе синтеза и фор-

мообразования. Цитоплазма существует, пока расходует ядерные продукты, а затем погибает.

Приведенные выше наблюдения, касающиеся роли интерфазного ядра, в определенной мере подтверждены в недавнее время в опытах с ядерными и безъядерными фрагментами амёб. Так как безъядерные фрагменты не способны образовывать псевдоподии и добывать пищу, то и ядродержащие фрагменты амёб также лишали пищи. Оказалось, что общее содержание белка быстрее снижается в безъядерных фрагментах, чем в голодающих ядерных. Включение меченого метионина или фенилаланина в цитоплазматические белки лишенной ядра половины амёбы примерно на 50% слабее, чем в половинах амёб с ядрами или в целых амёбах.

Вместе с тем оказалось, что удаление ядер по-разному влияет на содержание в цитоплазме различных ферментов. Содержание кислой фосфатазы, дипептидазы и эстеразы уменьшалось в безъядерных фрагментах гораздо быстрее, чем в ядерных. Содержание же других ферментов: протеазы, энолазы, аденозинтрифосфатазы, дыхательных ферментов — после энуклеации мало изменилось (Ж. Браше, 1960). В безъядерной части был резко угнетен гликолиз. Совокупность полученных данных позволяет считать, что биосинтез значительной части цитоплазматических белков в сильной степени контролируется ядром, не оказывающим такого влияния лишь на некоторые белки (Ю. Шантрен, 1963).

Иные данные получены в опытах на ацетабулариях. Удаление ядра не сказывается у них на протяжении 2 недель на интенсивности фотосинтеза. Не изменяется и скорость включения в белки безъядерного фрагмента $C^{14}O_2$ или меченого глицина. Но через 12—15 дней после энуклеации скорость включения $C^{14}O_2$ в безъядерные фрагменты снижается приблизительно на 30%, а общий белковый синтез вообще прекращается, хотя безъядерные фрагменты остаются жизнеспособными еще на протяжении свыше 2 месяцев (Ж. Браше, 1960). Сразу же после операции в безъядерном фрагменте ацетабуларии прекращается образование кислой фосфатазы.

В лишенной ядра ацетабуларии продолжается первое время не только активный синтез белков, но и синтез РНК. Заслуживает, однако, внимания то обстоятельство, что после обработки РНК-азой как в ядерной, так и в безъядерной половине белковый синтез подавляется. При последующем выращивании в отсутствие РНК-азы он восстанавливается лишь в ядродержащей половине.

Энуклеация клеток культуры амниона человека не нарушает включения меченых аминокислот в белки. Но включение C^{14} -аденина и уридина в РНК безъядерной клетки

резко снижается и достигает примерно 1% от включения в интактные клетки.

На основании некоторых опытов, по-видимому, можно заключить о способности цитоплазмы к более или менее автономному синтезу некоторых веществ. В пользу этого свидетельствуют, например, приведенные выше данные о незначительном изменении активности дыхательных и отдельных других ферментов в безъядерных половинах амеб. Имеются наблюдения о способности изолированных митохондрий синтезировать некоторые дыхательные ферменты (Ю. Шантрен, 1963). При пересадке в цитоплазму ацетабуларий ядер из *Aciculagia Schepeskii* в цитоплазме ацетабуларий продолжался синтез характерной для них кислой фосфатазы. Это говорит о наличии в цитоплазме ацетабуларий факторов, контролирующих синтез указанного фермента (Кеск, 1960). В раннем эмбриональном развитии повышение активности катепсина не зависит от ядра (А. А. Нейфах и Е. Р. Давыдов, 1964).

Однако совокупность приведенных данных свидетельствует о том, что для полноценного осуществления процессов цитоплазматического синтеза необходимо неповрежденное клеточное ядро. Лишь в его присутствии в цитоплазме может в полном объеме осуществляться белковый синтез. Выключение же ядра приводит к нарушению синтетических процессов, что быстрее проявляется в одних клетках (например, у амеб) и медленнее в других (ацетабуларии). Поэтому ядро можно с полным основанием рассматривать в качестве центрального «пульта управления» (Ж. А. Медведев, 1963) и координации совокупности синтезов, осуществляющихся в цитоплазме.

Как уже отмечалось ранее, эта функция ядра обеспечивается прежде всего имеющейся в нем ДНК, в которой закодирована последовательность аминокислот, характерная для белка соответствующих клеток. С помощью синтезируемой в ядре РНК необходимая информация передается с ДНК на рибосомы, являющиеся основными местами цитоплазматического синтеза. Учитывая эти представления, есть основания считать, что сохранение синтеза специфических ферментов в цитоплазме безъядерного фрагмента обеспечивается информацией, поступившей в рибосомы посредством информационной РНК до того, как была произведена энуклеация (Brashet, 1963).

Интерфазное ядро, по-видимому, регулирует и интенсивность белкового синтеза. Механизм этого второго регулирующего влияния пока недостаточно выяснен. Допускают, что он связан с синтетической деятельностью интерфазного ядра. В разделе о его химическом составе отмечалось, что, соглас-

но современным воззрениям, в интерфазных ядрах осуществляется синтез РНК и белка, причем имеются доказательства синтеза РНК всех трех типов, в том числе рибосомальной. Это создает необходимые предпосылки для синтеза в ядрах целых рибосом, состоящих из рибосомальной РНК и белка. Выше были приведены морфологические доказательства наличия в ядрах рибосом. Значение последних для процессов синтеза белка считается общепризнанным: именно на рибосомах из активированных аминокислот осуществляется синтез полипептидных цепочек.

Имея в виду изложенное, можно допустить, что ядро служит как бы поставщиком рибосом для цитоплазмы, хотя пока нет оснований для заключения о синтезе всей РНК клетки только в ядре. Тем не менее сделанное допущение, основанное на конкретном экспериментальном материале, позволяет представить себе, что регулирующее влияние интерфазного ядра на объем синтеза белка в цитоплазме обусловлено поступлением из ядра в цитоплазму некоторого числа рибосом: чем интенсивнее этот процесс, тем при прочих равных условиях должны создаваться лучшие условия для синтеза белка в цитоплазме. Напротив, при замедленном поступлении рибосом из ядра в цитоплазму в ней будет меньше рибосом, т. е. своеобразных центров белкового синтеза. Некоторым подтверждением данной гипотезы служат электронномикроскопические наблюдения, устанавливающие возможность выхода из ядра в цитоплазму РНК содержащих гранул, весьма напоминающих рибосомы (Weissenfels, 1964).

Тем не менее приведенная гипотеза нуждается в дальнейшем экспериментальном обосновании, так как пока не установлена тождественность рибосом ядра и цитоплазмы. Имеются наблюдения об известных различиях ядерных и цитоплазматических рибосом (Н. Р. Елаев, 1964; Mundsig, 1964). Не исключено, что из ядер в цитоплазму проникают не рибосомы в качестве специальных морфологических образований, а рибонуклеопротеиды, формирующие рибосомы уже в цитоплазме.

В самое последнее время при сочетании интерферометрии с ультрафиолетовой цитоспектрофотометрией и цитохимическими реакциями обнаружено прямое участие ядра в образовании секретируемого клеткой белка в околоушной слюнной и наружной орбитальной железах (В. Я. Бродский, В. Б. Иванов, Н. В. Нечаева, 1964).

Подчеркнув важнейшую роль ядер для жизнедеятельности клеток, нельзя вместе с тем не отметить и влияния цитоплазмы на ядро. Один из убедительных примеров такого влияния был установлен опытами с яйцеклетками *Xenopus*

laevis. Ядра этих яйцеклеток вначале убивали ультрафиолетовыми лучами, а затем в лишенные собственных ядер клетки пересаживали ядра от мутанта *Xenopus*, отличающегося несколько иными ядрами: они содержали по два ядрышка вместо одного. В результате оказалось, что в части случаев возникало потомство с двумя ядрышками в каждом ядре, т. е. привнесенные ядра определяли тип развития. В других случаях имелись одноядрышковые ядра, т. е. доминировали исходные признаки, которые могли передаваться ядрам лишь через цитоплазму, так как исходные одноядрышковые ядра были удалены.

Возможность изменения ядер под влиянием цитоплазмы продемонстрирована и в опытах с пересадкой ядер со стадии бластулы *Rana temporaria* в предварительно энуклеированную яйцеклетку *Xenopus* или *Rana temporaria*. При гомотрансплантации зародыши *R. temporaria* развивались до стадии гастролы. После пересадки ядер в яйцеклетку *Xenopus* развитие доходило только до стадии бластулы. Если же после однократного переноса в яйцеклетку *Xenopus* проводили 3—4 пассажа ядер через яйцеклетки *R. temporaria*, то зародыши развивались вновь до стадии гастролы. Более длительное пребывание ядер в яйцеклетке *Xenopus* приводило к тому, что последующие пассажи в яйцеклетку *R. temporaria* оказывались неэффективными. Одновременно установили, что в цитоплазме *Xenopus* ядра *R. temporaria* уменьшались в объеме, а в цитоплазме *R. temporaria* восстанавливались их прежние (исходные) размеры. Аналогичные данные получены при использовании американских видов *R. pipiens* и *R. sylvatica*. О влиянии цитоплазмы на ядро свидетельствуют и наблюдения, что при систематическом удалении части цитоплазмы у амёб уменьшаются размеры ядер (А. М. Лунц, 1959).

Приведенные примеры подчеркивают сложность ядерно-плазменных отношений, обеспечивающих жизнедеятельность клетки как единого целого.

ЛИТЕРАТУРА

- Александров В. Я., Грузова М. Н. Цитология, 1960, 2, 4, 389—395.
- Беляева Е. С., Волкова Л. В. Цитология, 1964, 6, 3, 286—289.
- Браше Ж. Биохимическая цитология. ИЛ, М., 1960.
- Бродский В. Я. РНК нейрона при различных функциональных состояниях нервной системы. В кн.: Нуклеиновые кислоты и нуклеопротеиды. М., 1961, 204—208.
- Бродский В. Я., Кузнецова А. Ф. Цитология, 1961, 3, 1, 89—91.
- Бродский В. Я., Иванов В. Б., Нечаева Н. В. ДАН СССР, 1964, 157, 2, 443—447.

- Бродский В. Я. Неделяющееся ядро. Руководство по цитологии. Изд. «Наука». М.—Л., 1965, 269—332.
- Вермель Е. М. Ученые записки Московского педагогического института, 1940, 25, 1, 1—163.
- Вибе К. Г. Цитология, 1961, 3, 2, 137—145.
- Вильсон Э. Клетка. Биомедгиз. М., 1936—1940.
- Гайцхоки В. С. Успехи совр. биол., 1964, 57, 1, 30—49.
- Георгиев Г. П., Ермолаева Л. П., Збарский И. Б. Биохимия, 1960, 25, 2, 318—323.
- Георгиев Г. П. Успехи совр. биол., 1962, 54, 3 (6), 285—308.
- Георгиев Г. П., Ченцов Ю. С. Биофизика, 1963, 8, 1, 50—57.
- Елаев Н. Р. Биохимия, 1964, 24, 3, 413—419.
- Живаго П. И. ДАН СССР, 1948, 60, 3, 445—448.
- Збарский И. Б. Клетка. БМЭ. Т. 13, 1959, 37—55.
- Збарский И. Б. О составе и биосинтетической активности ядерных структур. В кн.: Функциональная биохимия клеточных структур. Изд. АН СССР. М., 1962, 126—135.
- Збарский И. Б., Георгиев Г. П. Цитология, 1962, 4, 6, 605—616.
- Зиберт Г. Функция ядер и ядерные ферменты. В кн.: Функциональная биохимия клеточных структур. Изд. АН СССР. М., 1962, 102—115.
- Капустни А. В. Цитология, 1964, 6, 3, 291—298.
- Кедровский Б. В. Цитология белковых синтезов в животной клетке. Изд. АН СССР. М., 1959.
- Кикнадзе И. И. Цитология, 1961, 3, 1, 3—19.
- Косяков К. С. Успехи совр. биол., 1961, 51, 1, 104—114.
- Лерман М. И., Мантьева В. Л., Георгиев Г. П. Биохимия, 1964, 29, 3, 518—530.
- Лунц А. М. Журн. общей биол., 1959, 20, 1, 23—27.
- Макаров П. В. Арх. анат., гистол., эмбриол., 1958, 35, 6, 3—12.
- Макаров П. В. Успехи совр. биол., 1960, 50, 1 (4), 44—61.
- Медведев Ж. А. Биосинтез белков и проблемы онтогенеза. Медгиз. М., 1963.
- Мирский А. Е. Клеточное ядро. В кн.: Функциональная биохимия клеточных структур. Изд. АН СССР. М., 1962, 81—90.
- Мирский А., Осава С. Интерфазное ядро. В кн.: Функциональная морфология клетки. ИЛ, М., 1963, 9—68.
- Миттвух У. Половые различия в клетках. В кн.: Структура и функция клетки. «Мир», 1964, 56—71.
- Насонов Д. Н., Александров В. Я. Реакция протоплазмы на внешние воздействия. М.—Л., 1940.
- Нейфах А. А., Давыдов Е. Р. Биохимия, 1964, 29, 2, 273—282.
- Нейфах С. А., Немчинская В. Л., Гайцхоки В. С., Ганелина Л. Ш. ДАН СССР, 1964, 154, 5, стр. 1202—1206.
- Поликар А., Бо Ш. Субмикроскопические структуры в норме и патологии. Л., 1962.
- Прокофьева-Бельговская А. А. В сб.: Вопр. цитол. и общей физиол. М.—Л., 1960, стр. 215—253.
- Прокофьева-Бельговская А. А., Чжай Чжун-хе. Биофизика, 1961, 6, 6, 681—686.
- Самарина О. П. и Збарский И. Б. Биохимия, 1964, 29, 2, 321—328.
- Сэджер Р., Райн Ф. Цитологические и цитохимические основы наследственности. Изд. «Мир». М., 1964.
- Трошин А. С. Цитология, 1963, 5, 6, 601—614.
- Хесни Я. Е. Кариометрические исследования однослойных тканевых культур при вирусной инфекции. Дисс. М., 1964.
- Шантрен Ю. Биосинтез белка. ИЛ. М., 1963.
- Шмбаева С. М. Арх. пат., 1960, 22, 5, 3—18.

- Allfrey V. G., Littay V. G., Mirsky A. E. *J. Cell Biol.*, 1964, 21, 2, 213—229.
- Altmann H. W., Stöcker E., Thoenes W. *Ztschr. Zellforsch.*, 1963, 59, 1, 116—133.
- Barr M. L., Bertram E. G. *Nature*, 1949, 163, 4168, 676—677.
- Benninghoff A. *Ztschr. Naturforsch.*, 1950, 6-B, 1, 38—41.
- Birnstiel M., Ghipchase M., Hyde B. *Biochem., Biophys. Acta*, 1963, 76, 3, 454—462.
- Blondel B., Tolmach L. *Exp. Cell Res.*, 1965, 37, 2, 497—502.
- Brashet J. *Nature*, 1955, 175, 4463, 851—853.
- Brashet J. *Nova Acta Leopold.*, 1963, 26, 165, 17—23.
- Brown D., Gurdon J. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1964, 51, 1, 139—146.
- Callan H. G., Tomlin S. G. *Proc. Roy. Soc.*, 1950, 137, 888, 367—378.
- Callan H. G. *Sympos. Soc. exp. Biol.*, 1952, 6, 243—255.
- Caspersson T., Schulz J. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1939, 26, 8, 507—515.
- Caspersson T. *Cell growth and function*. Norton, New York, 1950.
- Estable C., Sotelo I. R. *Publ. Inst. invest. biol. Montevideo, Uruguay*, 1951, 1, 105—116.
- Estable C., Sotelo I. R. *Union intern. Sci. biol. Ser. B*, 1955, 21, 170—190.
- Feldherr C. M. *Exp. Cell Biol.*, 1964, 23, 1, 188—191.
- Fenster J. N., Allfrey V. G., Mirsky A. E. *Biochem. Biophys. Acta*, 1962, 47, 1, 130—137.
- Frey-Wissling A. *Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate*. Berlin, 1939.
- Granboulan N. *Exp. Cell Res.*, 1964, 34, 1, 71—87.
- Goulden M. E., Perry R. P. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1958, 44, 553—559.
- Haguenau F., Bernhard W. *Bull. Ass. Franc. pour l'etude du cancer*, 1955, 42, 4, 537—544.
- Harding C. V., Feldherr C. J. *Gen. Physiol.*, 1959, 42, 6, 1155—1165.
- Heitz E. *Planta*, 1931, 15, 3, 495—505.
- Hay E., Revel S. *The DNA component of the nucleolus*. В кн.: *Electron Microcopy*, New York—London, Acad. Press, 1962, 2, 7—19.
- Jacobi W. *Roux Arch.*, 1923, 106, 41—87.
- Jacobi W. *Arch. Entwicklunsmech.*, 1925, 106, 124—192.
- Kanno I., Loewenstein W. R. *Exp. Cell Res.*, 1963, 31, 1, 149—166.
- Keck R. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1960, 3, 1, 56—61.
- Kessel R. J. *Cell Biol.*, 1965, 24, 3, 471—481.
- Klinger H. P., Schwarzscher H. G. *Nature*, 1958, 181, 4616, 1150—1152.
- Lewis W. A. *Anat. Rec.*, 1947, 97, 4, 433—475.
- Linnartz-Niklas A., Hempel K., Maurer W. *Ztschr. Zellforsch.*, 1964, 62, 4, 443—453.
- Mazia D. *Physiology of the cell nucleus*. В кн.: *Modern trends in physiology and biochemistry* (Guzman Barron ed.). Ac. Press. New York, 1952.
- McClintok B. *Ztschr. Zellforsch.*, 1934, 21, 2, 294—328.
- Monesi V., Crippa M. *Ztschr. Zellforsch.*, 1964, 62, 6, 807—821.
- Mundcur B. *Ztschr. Zellforsch.*, 1964, 63, 1, 52—80.
- O'Donnell E. *Nature*, 1961, 191, 4795, 1325—1326.
- Perry R. In *Internat. Symp. Control Cell Div. and Induct. Cancer*. Lima Cali, 1963. Bethesda, 1964, 73—89.
- Prescott D. M. *Ann. Rev. Physiol.*, 1960, 22, 17—44.
- Ries E., Gersch M. *Biologie der Zelle*. Leipzig, 1953.
- Ris H., Mirsky A. E. *J. Gen. Physiol.*, 1949, 32, 4, 489—502.

Siebert G. Biochem. Ztschr., 1961, 334, 4, 369—387.

Scholtissek Ch., Potter V. R. Ztschr. Naturforsch., 1960, 156, 7, 453—459.

Scholtissek Ch. Nature, 1962, 194, 4826, 353—355.

Tahmisian T. N., Brues A. M., Svihla G., Slifer E. H. Exp. Cell Res., 1955, 9, 1, 135—138.

Watson M. L. J. Biochem., Biophys. Acta, 1954, 15, 4, 475—479.

Watson M. L. J. Biochem., Biophys. Cytol., 1955, 1, 2, 257—270.

Weissenfels N. Ztschr. Zellforsch., 1964, 62, 5, 667—700.

Wischnitzer S. Chromosoma, 1963, 13, 5, 600—608.

Yamamoto T. J. Cell Biol., 1963, 17, 2, 413—422.

Х

ХРОМОСОМЫ

Хромосомы являются одним из компонентов клеточного ядра и обладают сложной организацией, способностью к репликации и к передаче генетической информации в ряду клеточных поколений. Первые описания хромосом относятся к периоду открытия митотического деления клетки (Э. Руссов, 1871; И. Д. Чистяков, 1873; Е. Мейзель, 1877; Н. Бобрецкий, 1877; Э. Страсбургер, 1879; В. Флемминг, 1882). Название «хромосома» (греч. *chromo* — краска, *soma* — тело) было предложено В. Вальдейером (1888) на основании ее способности во время митоза интенсивно окрашиваться основными красителями.

В связи с важной ролью хромосом в передаче наследственных признаков, изменчивости и в мутационном процессе эти структуры давно стали предметом изучения специальных цитологических дисциплин — цитогенетики и молекулярной генетики. Естественно, что в краткой главе невозможно осветить всю многогранную проблему хромосом и особенно специальные ее генетические аспекты, и поэтому мы остановимся лишь на некоторых общих вопросах морфологии, химии и физиологии этих структур, отсылая читателей, интере-

сующихся генетикой, к специальным руководствам (К. Беллар, 1934; Дж. Ниль, 1958; Р. Вагнер, Г. Митчел, 1958; Swanson, 1960; Darlington, La Cour, 1962; М. Е. Лобашов, 1963; Н. П. Дубинин, 1963; А. Мюнцинг, 1963; Р. Сэджер, Ф. Райн, 1964, и др.).

Морфология. Хромосомы обычно имеют форму прямых или изогнутых палочек. Конфигурация хромосомы определяется наличием на ней первичной (центрической) перетяжки, вторичными перетяжками, теломерами и для некоторых

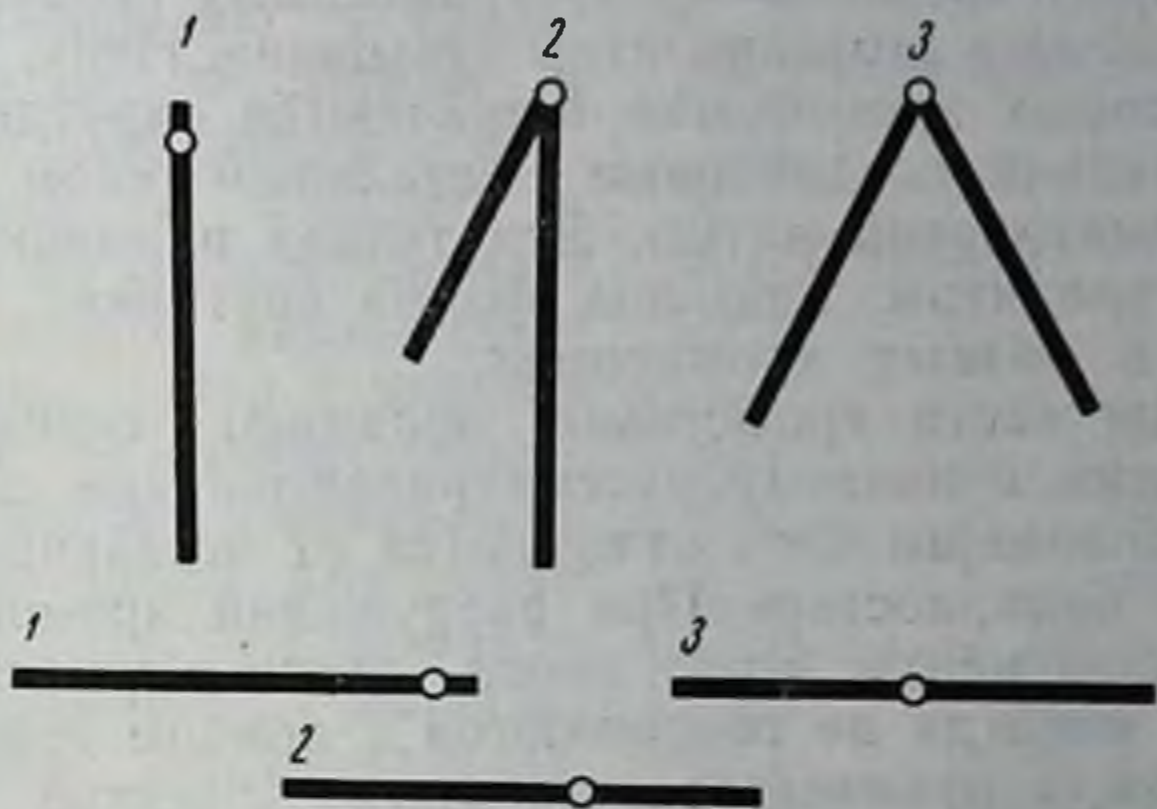


Рис. 74. Различные типы хромосом. Верхний ряд — анафазные хромосомы, нижний — метафазные хромосомы.

1 — акроцентрические хромосомы; 2 — субметацентрические хромосомы; 3 — метацентрические хромосомы.

хромосом присутствием спутника. Форма хромосомы зависит прежде всего от расположения центрической перетяжки. Последняя представляет собой светлый суженный участок хромосомы, лишенный ДНК. Внутри этого участка расположена особая структура — центромера, или кинетохор, при помощи которой хромосома прикрепляется к нитям митотического аппарата. Центромера разделяет хромосому на два плеча.

Расположение центромеры определяет три основные формы хромосом: 1. Акроцентрические хромосомы, в которых центромера расположена у одного из концов они имеют форму палочки с одним слабо выраженным плечом. 2. Субметацентрические хромосомы с неравными плечами, имеющие форму латинской буквы L. 3. Метацентрические хромосомы с центрально расположенной центромерой и имеющие соответственно почти равные плечи (рис. 74). Типы хромосом постоянны для данного вида организмов и поэтому слу-

жат одним из основных признаков при отождествлении наборов хромосом.

Другой характерной особенностью хромосомы является наличие вторичных перетяжек. Эти участки, как и центрическая перетяжка, слабо окрашиваются основными красителями. Расположение и глубина вторичных перетяжек варьируют в разных хромосомах, но постоянны для каждой из них и поэтому используются для идентификации отдельных хромосом в хромосомном наборе клетки. С вторичной перетяжкой некоторых хромосом (SAT-хромосомы) связывают образование ядрышка («организатор ядрышка», Heitz, 1931).

В некоторых хромосомах встречаются округлые или удлиненные тельца, соединенные с остальным телом хромосомы тонкой хроматиновой нитью. Эти тельца называют спутником, или трабантом. Размеры, форма спутника и их нити различны в разных хромосомах.

Концевые части хромосомы обладают специфическими особенностями и поэтому рассматриваются как специальные участки — теломеры. Они отличаются от остальных участков хромосомы полярностью. При разрушении хромосом образующиеся фрагменты могут снова воссоединяться друг с другом, но никогда не соединяются с концом теломеры. Таким образом, в отличие от остальных участков хромосом, которые биполярны и могут различным образом присоединяться друг к другу, теломера обладает монополярностью и лишена этой способности.

Хромосомы в процессе митотического деления клетки расщепляются на гомологичные половинки, которые правильно распределяются между дочерними клетками. Процесс репродукции хромосом происходит в интерфазе (см. гл. XI). В профазе митоза каждая хромосома уже состоит из двух морфологически идентичных, спирально закрученных половинок, которые называют хроматидами. В профазе-метафазе хроматиды постепенно начинают отходить друг от друга. На этих стадиях митоза расхождение еще не полное: хроматиды остаются связанными между собой в области центромеры. Поэтому метафазные хромосомы обычно имеют крестообразную форму: лопасти креста образованы хроматидами, а в центре его расположена центромера.

Структура хромосом (рис. 75) изучена пока недостаточно и во многом вызывает споры. При обычных методах окраски и световой микроскопии хромосомы выглядят гомогенными. При специальных, довольно грубых методах обработки препарата (воздействие горячей водой, парами кислот, щелочами и цианистым калием) в хромосоме были обнаружены тонкие извитые нити, тянущиеся по всей ее длине. Эти нити были впервые описаны О. В. Баранецким (1880) в клетках

пыльцы традесканции. Позже Ф. Вейдовский (1912) назвал их хромонемами. Число хромонем в хромосомах разных клеток нуждается еще в уточнении. В крупных хроматидах описывают по 2—4 хромонемы, в политенных хромосомах насчитывают до 1000 хромонем.

Изменения формы и размеров хромосом во время митоза связаны с циклами спирализации и деспирализации образующих ее хромонем. В хромосомах хромонемы образуют два типа спиралей: большую спираль, состоящую у традесканции из 10—30 витков, и малую, расположенную перпендикулярно к большой и состоящую из многочисленных мелких, плотно расположенных витков. Один участок хромосомы — центромера — всегда остается деспирализованным. Во время интерфазы хромосомы (за исключением гетерохроматиновых районов) максимально деспирализованы, и в таком состоянии происходит их редупликация. С началом митоза хромонема подвергается спирализации.

В поздней профазе хромонемы образуют большую спираль, число витков уменьшается, но диаметр их увеличивается и хромосомы укорачиваются и утолщаются. На более поздних стадиях деления происходит дальнейшее уплотнение хромосом за счет сближения витков спирали и уменьшения их числа. В конце митоза витки спирали начинают раскручиваться, но полностью этот процесс не завершается, и даже в интерфазе сохраняется спиральная структура хромонем в виде так называемой остаточной («реликтовой») спирали, которая обнаруживается во время следующего деления. Механизм спирализации и деспирализации хромосом не изучен. Известно, что спирализацию можно вызвать экспериментально путем воздействия на изолированные ядра аргинином, ионами магния, протаминами и гистонами или путем снижения рН среды.

Наоборот, полиамины задерживают деспирализацию хромосом, а увеличение рН или добавление нейтральных солей вызывает деспирализацию.

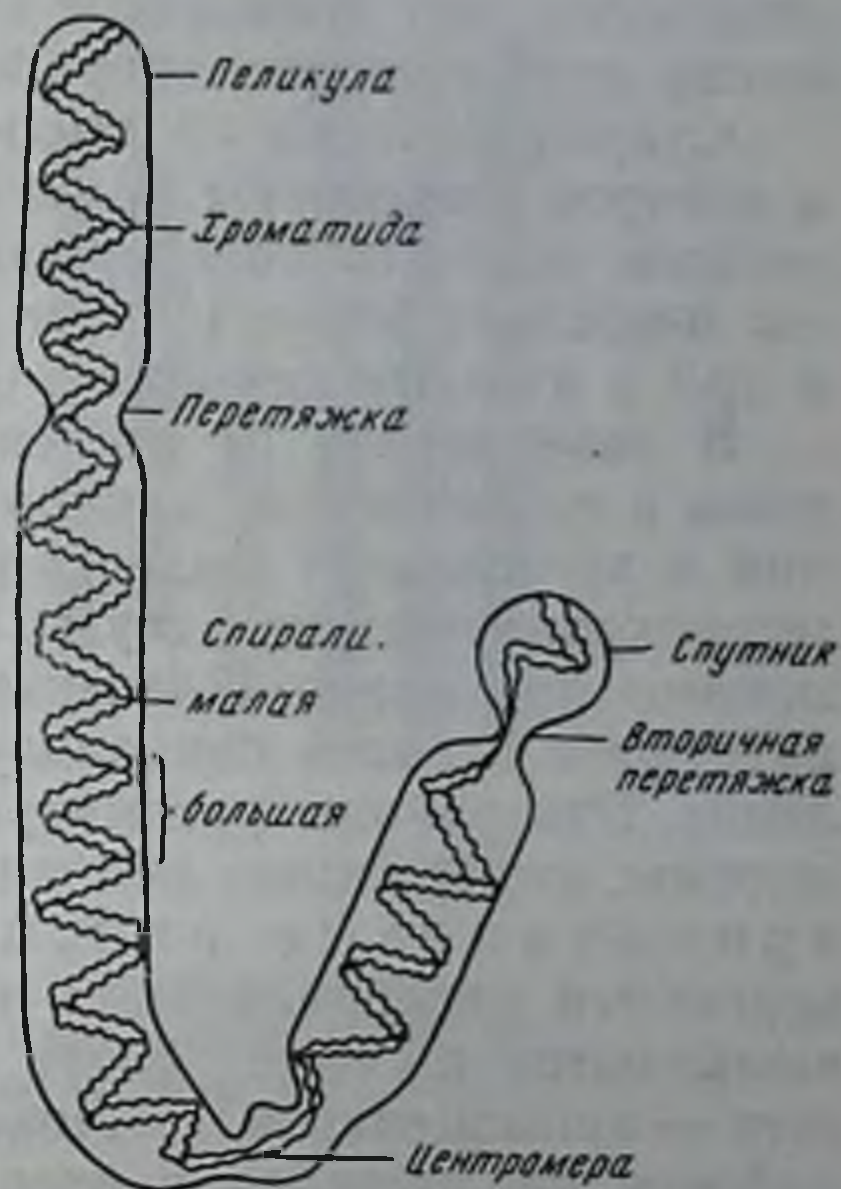


Рис. 75. Схема строения хромосомы. В хромосоме видны две хромонемы и их спирали.

По ходу хромонемы наблюдаются небольшие утолщения, благодаря которым она похожа на жутку бус. Эти утолщения называют хромомерами, а участки, расположенные между ними, — межхромомерными участками. Своеобразие формы, расположения и размеров хромомер придает разным хромосомам индивидуальные особенности. Строение хромомер интерпретируют по-разному. Наиболее распространены представления, что хромомеры возникают в результате наложения друг на друга спиралей хромонемы.

Старые взгляды об аморфном, ахроматическом матриксе, в котором заключены хромонемы, и об особой оболочке хромосомы не были подтверждены электронномикроскопическими исследованиями (Porter, 1955; Moses, 1956; Ris, 1959, и др.) и в настоящее время оставлены.

В зависимости от степени закручивания спирали хромонемы и особенностей циклов ее спирализации и деспирализации в хромосомах выделяют два района: эухроматиновые и гетерохроматиновые. Эухроматиновые районы хромосомы при каждом делении регулярно деспирализуются в интерфазе и вновь спирализуются в профазе следующего деления. Эти районы рассматривают как «активные» зоны хромосомы, содержащие основной комплекс генов. Гетерохроматиновые районы в интерфазном ядре не подвергаются деспирализации, остаются спирализованными и выявляются в виде более плотных частей хроматиновой сети — хромоцентров. Локализация гетерохроматиновых районов неодинакова в разных хромосомах (рис. 76). Гетерохроматиновые районы окрашиваются по Фельгену сильнее или слабее, чем остальные части хромосомы (положительный или отрицательный гетеропикноз). В отличие от эухроматиновых районов ДНК гетерохроматиновых участков более лабильна и подвержена изменениям при изменении внешних условий (например, при воздействии холода). Генетики полагают, что гетерохроматиновые районы не содержат генов, контролирующих развитие организма, и оказывают влияние только на эффект положения¹ и, вероятно, на количественное проявление признаков. В интерфазном ядре гетерохроматиновые районы могут со всех сторон окружать ядрышко, образуя вокруг него фельгеноположительное кольцо.

При изучении структуры хромосом большие надежды возлагали на электронную микроскопию. Однако иллюзии первых лет исследований, допускавшие возможность «увидеть гены» (Pease, Baker, 1949), рассеялись довольно быстро. В этом начальном периоде вообще не удалось обнару-

¹ Эффект положения — влияние одного участка хромосомы на фенотипическое проявление соседнего участка той же хромосомы.

жить каких-либо специальных дифференцировок хромосом. Только после усовершенствования способов фиксации и контрастирования препаратов рядом авторов (Kaufman, McDonald, 1956; Iasuzumi, 1957; Ris, 1957, 1959; Nebel, 1959; Sirlin, Schor, 1962; Giménez-Martin, López-Sáez, González-Fernandez, 1963, и др. были описаны фибриллярные образования, которые лежат в основе ультраструктуры хромонем.



Рис. 76. Схема распределения гетерохроматиновых районов (светлые участки) в пяти (А, В, С, Д, Е) хромосомах трех разных видов *Trillium* (по Swanson, 1960).

1 — *T. erectum*; 2 — *T. grandiflorum*; 3 — *T. undulatum*.

По разным данным, диаметр этих микрофибрилл колеблется от 30—40 до 100—250 Å. На хромосомах амебы (Pappas, 1956; Roth, Obetz, Daniels, 1960), слюнных желез насекомых (Sirlin, Schor, 1962), сперматоцитов мышцы (Nebel, 1959) и на других объектах удалось проследить спирализацию микрофибрилл. Неоднородные данные о размерах этих образований объясняют разной степенью их спирализации. Учитывая, что диаметр микрофибрилл (30—40 Å) приближается к размерам нитевидных молекул нуклеопротеида, предполагают, что элементарные фибриллы хромосом образованы двойной спиралью ДНК, окруженной молекулами гистона.

От рассмотренных выше обычных соматических хромосом отличаются рядом особенностей гигантские политенные хромосомы и хромосомы типа ламповых щеток. Изучение этих двух типов хромосом дало очень много для анализа функции хромосом, и поэтому мы кратко остановимся на их особенностях.

Политенные хромосомы встречаются в ряде клеток (слюнные железы, эндотелий кишечника, мальпигиевы трубки) двукрылых насекомых. На фиксированных препаратах они имеют вид гигантских лентовидных образований (рис. 77, 78), значительно более крупных, чем обычные соматические хромосомы. В слюнных железах дрозофилы политенные хромосомы достигают в длину 400 μ , т. е. почти в

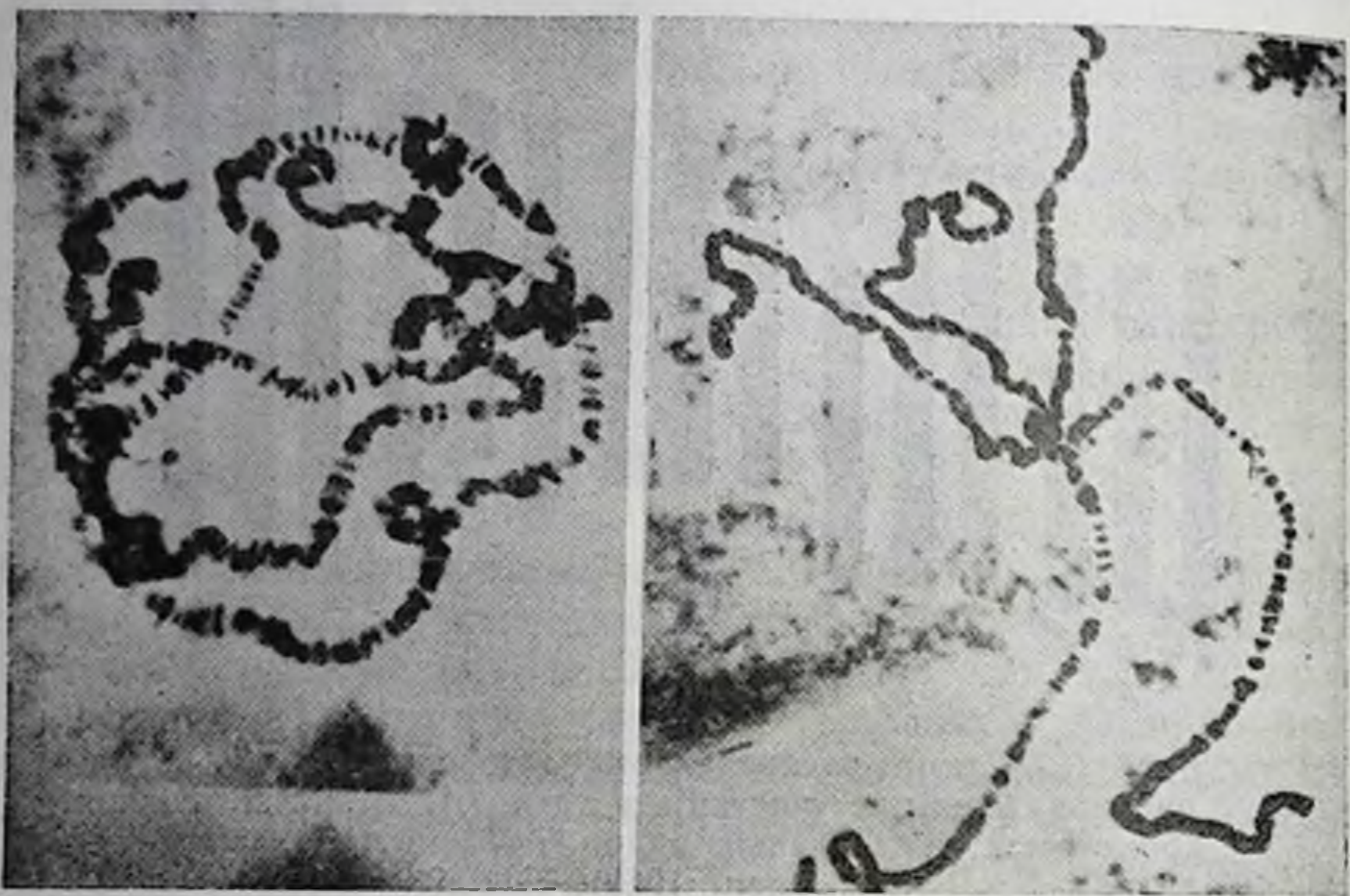


Рис. 77. Политенные хромосомы дрозофилы (по Darlington и La Cour, 1962).

250 раз превышают обычные размеры хромосом. Политенный характер хромосом этого типа обусловлен наличием в них большого числа хромонем (у дрозофилы около 1000), которые в процессе развития подвергались многократной редупликации без последующего расхождения.

По длиннику политенных хромосом обнаруживается ряд темных фельгенположительных дисков, чередующихся со светлыми фельгенотрицательными междисковыми промежутками. В гигантских хромосомах дрозофилы несчитываются выше 6000 дисков. Локализация, ширина и распределение дисков постоянны для данной хромосомы и идентичны в гомологичных парах. Цитогенетиками разработаны для таких хромосом подробные карты, на которых нанесено расположение генов, выявленных путем сопоставления повреждений разных дисков и соответствующих генетических изменений (Т. Пайнтер, К. Бриджес, 1937).



Рис. 78. Политенные хромосомы в интерфазных ядрах слюнных желез живых клеток *Chironomus girgicus*. Увеличение $\times 600$ (по Darlington и La Cour, 1962).

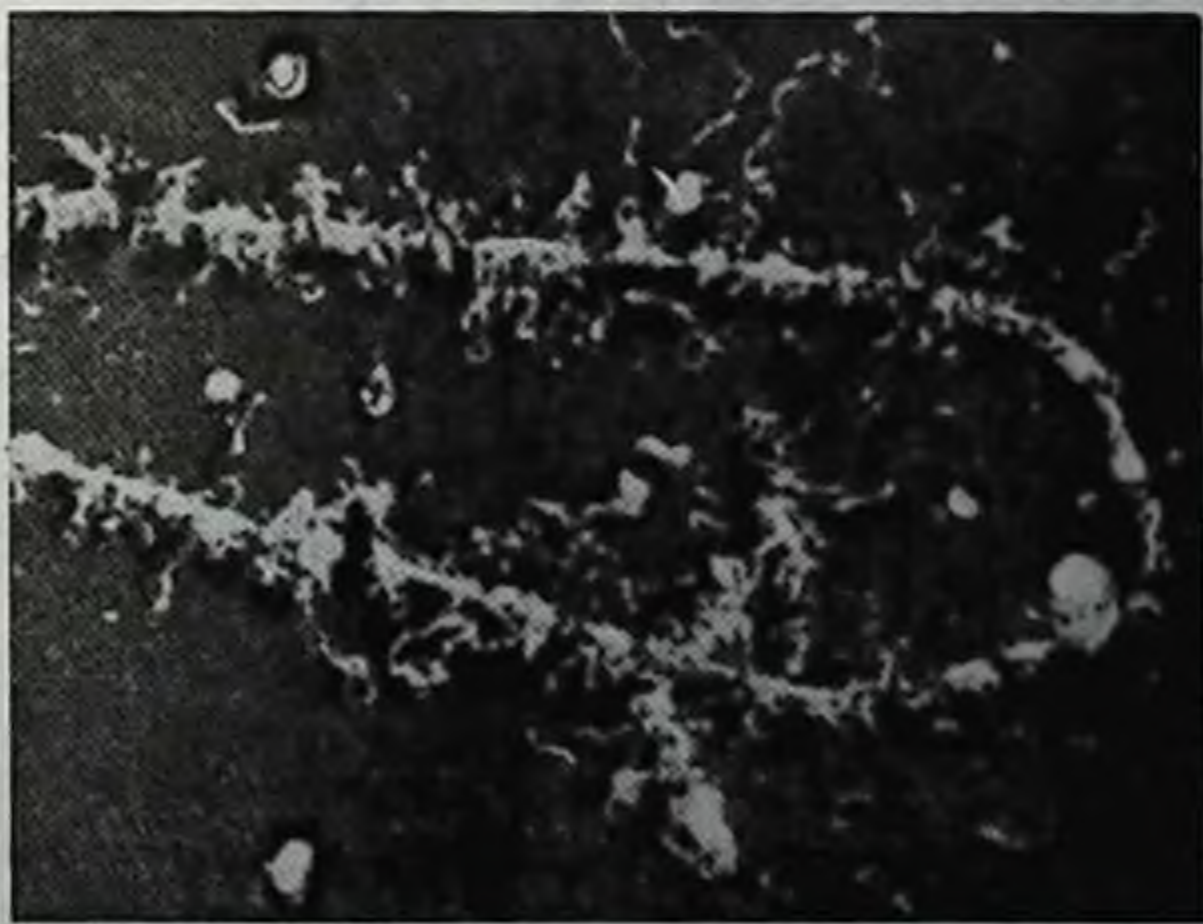


Рис. 79. Хромосомы типа ламповых щеток тритона (*Triturus viridescens*). Фазово-контрастная микроскопия (по Gall, 1956).

На определенных стадиях развития личинок двукрылых в некоторых дисках возникают утолщения (пуфы, или кольца Бальбиани). Образование пуфов связано с деспирализацией хромонем в этих областях. В начале образования пуфы отличаются высоким содержанием ДНК, а позже в них появляется базофильный фельгенотрицательный материал в

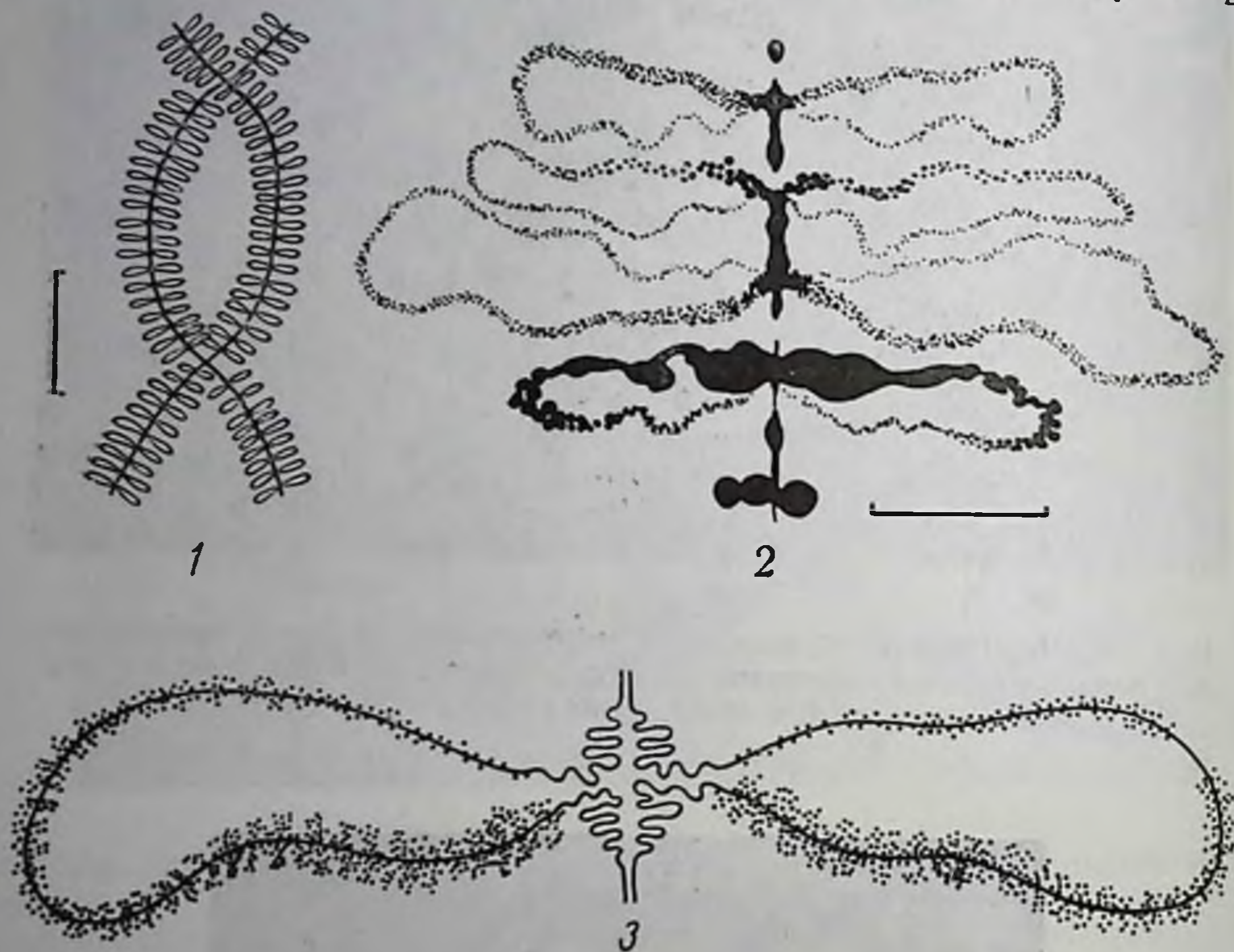


Рис. 80. Схема строения хромосомы типа ламповых щеток из яйца тритона (по Gall, 1956).

1 — схематическое изображение двух гомологичных хромосом — ламповых щеток, сцепленных друг с другом в местах двух хвостов; 2 — участок хромосомы, в котором видны центральная ось хромомера и отходящие от него пары петель; 3 — предполагаемая структура хромосомы, образованной двумя хромонемами. В область хромомера хромонемы образуют мелкие изгибы, а в середине формируют две парные петли.

виде глыбок и вакуолей. Образование пуфов и их изменения в процессе развития рассматривают как выражение изменений активности расположенных в этих областях генов.

Своеобразным строением отличаются и хромосомы типа ламповых щеток, которые встречаются в овоцитах рыб, амфибий, рептилий и птиц (рис. 79). Хромосомы этого типа характеризуются наличием многочисленных боковых отростков, придающих им вид ершика. Каждая хромосома образована двумя хромонемами, которые в области хромомеров образуют плотные завитки (рис. 80). От каждого хромомера отходят две парные петли, которые пред-

ставляют собой деспирализованные участки хромонем, образующие боковые выросты хромосомы (Gall, 1956). Деспирализованный участок петель синтезирует на своей поверхности РНК и белок. Спирализация петель приводит к их превращению в хромомеры, и их синтетическая деятельность прекращается.

Размеры и количество. Размеры хромосом разных клеток варьируют в широких пределах. Длина их колеблется от 0,2 до 50 μ , а диаметр — от 0,2 до 3 μ . У человека длина хромосом равна приблизительно 4—6 μ . Размеры гигантских политенных хромосом достигают 400 μ , а хромосомы типа ламповых щеток имеют длину 500—800 μ . При снижении содержания водородных ионов в среде хромосомы типа ламповых щеток вытягиваются, достигая почти 1 мм. Разные хромосомы в одной клетке также отличаются своими размерами (табл. 16).

Таблица 16
Относительные размеры хромосом человека (по системе Денверской комиссии)

Номер хромосомы	Длина хромосомы относительно суммы длин всех аутосом и X-хромосомы	Отношение размеров длинного плеча хромосомы к ее короткому плечу	Отношение длины короткого плеча к длине всей хромосомы	Номер хромосомы	Длина хромосомы относительно суммы длин всех аутосом и X-хромосомы	Отношение размеров длинного плеча хромосомы к ее короткому плечу	Отношение длины короткого плеча к длине всей хромосомы
1	82—90	1,1	48—49	12	42—43	1,7—3,1	24—37
2	77—84	1,5—1,6	38—40	13	32—36	4,8—9,7	10—17
3	63—72	1,2	45—46	14	32—37	4,3—9,5	9—19
4	60—64	2,6—2,9	25—28	15	29—35	3,8—11,9	9—22
5	57—60	2,4—3,2	24—30	16	27—33	1,4—1,8	31—42
X	51—59	1,6—2,8	32—38	17	29—40	1,8—3,1	23—36
6	54—56	1,6—1,8	36—38	18	24—27	2,4—4,2	21—29
7	47—52	1,3—1,9	35—43	19	22—26	1,2—1,9	34—45
8	44—48	1,5—2,4	29—40	20	19—25	1,2—1,3	40—46
9	44—47	1,8—2,4	32—40	21	13—20	2,3—6,8	13—31
10	43—45	1,9—2,6	27—35	22	12—18	2,0—6,0	14—33
11	43—44	1,5—2,8	31—40	Y	11—22	2,9—4,9	0—26

Число хромосом в клетке является одним из ее видовых признаков. В соматических клетках различных организмов содержится двойной, или диплоидный ($2n$), набор хромосом, который образуется в результате слияния двух гамет (мужской и женской). Каждая гамета содержит одиночный, или гаплоидный (n), набор хромосом.

Диплоидный набор образован двойным рядом хромосом, в котором каждый член пары (материнская и отцовская хромосомы) подобен партнеру (гомологичные хромосомы). Число хромосом в клетках разных организмов варьирует от

4 (лошадиная аскарида) до нескольких сотен (споровые растения, простейшие). Количество хромосом в диплоидных наборах некоторых организмов можно иллюстрировать следующими данными:

Человек	46	Комар	6
Горилла	48	Шелкопряд	62
Лиса	38	Кукуруза	20
Собака	22	Лилия	24
Крыса	42	Лук	16
Лягушка	24	Рожь	14
Дрозофила	8	Радиолярии	1 600

Вопрос о числе хромосом у человека долгое время оставался спорным. Почти 35 лет продержалось представление, что диплоидное число хромосом человека равно 48. Лишь после усовершенствования методов цитогенетических исследований в 1956 г. шведские цитологи Tjio и Levan (1956) в культуре фибробластов легкого эмбриона обнаружили, что диплоидное число хромосом человека равно 46. Последующие исследования (см. А. А. Прокофьева-Бельговская, 1963) на многих тысячах клеток у сотен людей подтвердили, что кариотип (совокупность признаков, характеризующих хромосомный набор данной клетки) человека представлен двумя половыми хромосомами (XY или XX) и 22 парами неполовых хромосом (аутосом).

Число хромосом устойчиво сохраняется в разных таксономических группах, и оно служит одним из важных критериев при систематике организмов. Эта устойчивость не является, однако, абсолютной. В определенных условиях в природе (при изменениях окружающей среды) и в эксперименте (при воздействии различных химических и физических агентов) число хромосом в клетке может изменяться. Возникающие при этом изменения приводят к различным перестройкам хромосомных наборов.

1. Утрата или прибавление к диплоидному набору одной или нескольких хромосом (анеуплоидия). В тех случаях, когда утрачена одна хромосома ($2n-1$), говорят о моносомии. К диплоидному хромосомному набору могут прибавиться одна хромосома ($2n+1$ —трисомия), пара хромосом ($2n+2$ —тетрасомия) или другое число дополнительных хромосом (полисомии).

2. Увеличение всего гаплоидного набора хромосом в 3 раза ($3n$ —триплоидия), в 4 ($4n$ —тетраплоидия), в 5 ($5n$ —пентоплоидия), в 8 ($8n$ —октоплоидия) и в большее число раз. Увеличение набора хромосом сравнительно с гаплоидным больше, чем в 2 раза, называют полиплоидией.

Полиплоидия возникает либо вследствие нерасхождения хроматид после их редупликации (аутополиплоидия), либо в результате гибридизации (аллополиплоидия).

Полиплоидия широко распространена в мире растений (Л. П. Бреславец, 1963). Среди животных природная полиплоидия встречается значительно реже. Описаны отдельные полиплоидные индивиды у парамеций, ракообразных, насекомых и амфибий. Экспериментальным путем (воздействием колхицином) удалось получить тетраплоидные особи у мышей (Edwards, 1954). Явление полиплоидизации часто наблюдается в опухолевых клетках млекопитающих животных.

Полиплоидия приводит к изменению ряда морфологических и физиологических свойств клетки. С увеличением числа хромосомных наборов (до определенных пределов) увеличиваются размеры клетки, ее ядра и ядрышек. Так, например, объем клеток петунии (*Petunia nictiginiiflora*) у диплоидной особи равен $2,76 \mu^3$, у триплоидной — $3,93 \mu^3$, у тетраплоидной — $5,20 \mu^3$. В клетках ржи количество и размеры ядрышек возрастают параллельно увеличению числа хромосомных наборов: у диплоидов имеется 2 ядрышка, у триплоидов — 3, у тетраплоидов 4 и т. д. (Л. П. Бреславец, 1963).

Рядом авторов были прослежены изменения физиологических свойств (интенсивности роста, содержания витаминов, устойчивости к повреждению и др.) полиплоидных организмов. Изучение полиплоидной клетки остается по-прежнему одной из наиболее увлекательных и важных проблем цитологии.

Методы выявления. Хромосомы удобнее изучать на стадиях мета- или анафазы митоза и мейоза. Наиболее подходящими объектами являются клетки культуры ткани, так как изучение тотальных препаратов клеток позволяет избежать опасности утраты или рассечения хромосом, что всегда может быть при приготовлении срезов.

Фиксации материала обычно предшествует обработка гипотоническим раствором, вследствие чего клетка набухает и при небольшом надавливании на препарат хромосомы свободно распределяются в цитоплазме. Хромосомы интенсивно красятся основными красителями (гематоксилин, сафранин и др.). Наилучшие результаты дает элективная окраска уксуснокислым орсеином, ацетокармином или фуксинсернистой кислотой по Фельгену. Хромосомы можно наблюдать в живой клетке при использовании фазовоконтрастного устройства. Хорошим приемом изучения хромосом служит микроскопия в ультрафиолетовых лучах: благодаря содержанию ДНК хромосомы избирательно поглощают лучи с длиной волны 2600 \AA .

Химический состав. Химические особенности хромосом изучают при помощи окраски специфическими красителями, путем исследования спектров поглощения в ультрафиолетовых лучах или применяют методы автордиографии (включение меченых изотопов), или, наконец, проводят биохимические анализы ядер и изолированных их компонентов. Ряду авторов (Migsky, Ris, 1947, 1951, и др.) из разрушенного интерфазного ядра путем центрифугирования удалось выделить тонкие нити, которые расценивают как «изолированные хромосомы». Несмотря на то что многие химические сведения о хромосомах получены на этом материале, до сих пор остается спорным, представляют ли собой изолированные нитевидные образования истинные хромосомы или они являются фрагментами разрушенных ядер. В пользу первой возможности свидетельствуют данные о наличии в изолированных нитях фельгенотрицательных участков, напоминающих центромеру. Сложность решения этого вопроса связана с отсутствием достаточных сведений о морфологических преобразованиях хромосом в интерфазном ядре, что лишает исследователя надежных критериев для идентификации изолированных нитей с хромосомами.

До завершения дискуссий об «изолированных хромосомах» некоторые ориентировочные сведения о химии хромосом могут дать общие данные о химическом составе всего интактного ядра. Как бы ни решился вопрос о судьбе хромосом в интерфазном ядре (см. главу IX), не вызывает сомнения, что главным источником основных химических

Таблица 17

Зависимость содержания ДНК в ядре от числа наборов хромосом (по А. У. Поллистеру, 1955)

Плоидность	Количество ДНК (в условных единицах)
Гаплоидное	1,68
Диплоидное	3,16
Тетраплоидное	6,30
Октоплоидное	12,8

Примечание. Содержание ДНК определяли по интенсивности реакции Фельгена.

компонентов интерфазного ядра служат хромосомы, формирующие ядро в конце митоза. В этом убеждает зависимость содержания основного компонента интерфазного ядра — ДНК от числа хромосомных наборов (табл. 17). Анализируя химические особенности интерфазного ядра, предполагают,

что негистоновые белки, легко теряющиеся при выделении ядер, входят в состав ядерного сока, тогда как ДНК, гистоны и остаточные белки входят в состав хромосом (А. У. Поллистер, 1955).

Биохимические исследования «изолированных хромосом» показали, что в их состав входят ДНК, гистон, РНК и содержащий триптофан остаточный белок.

Морфологическая конфигурация хромосом обусловлена соединением ДНК с остаточным белком. Эксперименты на «изолированных хромосомах» ядер печени и почек показали, что после удаления гистонов внешний вид хромосом не изменяется. Разрушение остаточного белка трипсином превращает хромосомы в гель ДНК. Хромосомы же, обработанные дезоксирибонуклеазой, превращаются в массу тонких белковых нитей (Mirsky, Ris, 1951).

Молекулярную организацию хромосом описывают как нитевидную структуру, образованную системой молекул ДНК, гистона и остаточного белка. Молекула ДНК (см. главу II) образована двумя спирально закрученными фосфатно-углеводными цепями, связанными водородными связями между азотистыми основаниями. Комплекс ДНК с гистоном представляет собой нитевидную частицу с молекулярным весом около $18 \cdot 10^6$. Предполагают, что молекулы гистона обвиваются вокруг спирали ДНК, располагаясь в борозде между полинуклеотидными спиралями и удерживаясь либо водородными связями, либо электростатическими силами. Остаточный белок служит, вероятно, «скелетным» белком, с которым связаны ДНК и гистон. Микрофибриллы, которые обнаруживают при электронной микроскопии, по-видимому, образованы этим нуклеопротеидным комплексом (остаточный белок, ДНК и гистоны), имеющим нитевидную форму и спиральную молекулярную структуру. Соотношения микроскопической и молекулярной организации хромосом пока остаются дискуссионными. Допускают три возможных варианта топографии нуклеопротеидных нитей в хромонеме: 1) ось хромонемы образована комплексом нуклеопротеидных нитей, последовательно спаянных конец в конец в виде непрерывной микрофибриллы; 2) подобную же микрофибриллу образуют нуклеопротеидные нити, связанные веществом ненуклеиновой природы; 3) хромонема на всем протяжении образована одной длинной нуклеопротеидной нитью.

Цитохимические исследования хромосом проводили главным образом на крупных политенных хромосомах двукрылых насекомых и на хромосомах типа ламповых щеток. Первые данные (Caspersson, 1941), полученные путем ультрафиолетовой микроскопии на политенных хромосомах, показали, что темные диски эухроматиновых районов содержат

ДНК и гистоны, а междисковые промежутки образованы только белком типа глобулинов. Гетерохроматиновые районы содержат также РНК. Последующими исследованиями было определено, что диски гетерохроматиновых районов окрашиваются метиловым зеленым и пиронином по Унна, а предварительное разрушение РНК рибонуклеазой устраняет пиронинофилию этих дисков. Цитохимические исследования (реакция на аргинин) подтвердили также высокое содержание гистонов в хромосомах.

Применяя автордиографические методы исследования с введением меченых предшественников ДНК (H^3 -тимидин), РНК (H^3 -уридин, H^3 -цитидин и др.) и белков (меченые аминокислоты), удалось проследить локализацию и синтез этих веществ в хромосомах. Было найдено, что синтез ДНК в разных частях хромосом происходит асинхронно (см. ниже). На сперматоцитах *Melanoplus* было показано, что синтез ДНК в гетерохроматиновых районах хромосом происходит интенсивнее и быстрее, чем в эухроматиновых районах (Lima de Faria, 1959a, 1959). Автордиографические исследования политеменных хромосом поставили под сомнение распространенные представления об абсолютной стабильности хромосомальной ДНК и синтезе ее только при редупликации. Эти сомнения заронили еще старые наблюдения над изменениями содержания ДНК в гетерохроматине при охлаждении (Darlington, La Cour, 1940). Позже было прослежено избирательное включение H^3 -тимидина в пуфы политеменных хромосом, причем это не сопровождалось нарастанием количества (цитофотометрия) ДНК (Ficq и Ravan, 1958). Указанные и аналогичные наблюдения позволяют предполагать, что в хромосомах наряду со стабильной ДНК, связанной с генетическими функциями, существует и метаболически активная ДНК, связанная с функциональными клеточными изменениями (Ficq, Ravan, 1961, и др.). Эта метаболически активная ДНК локализована, вероятно, либо в гетерохроматиновых районах, либо, как предполагает Lima de Faria (1962), в особых фельгенположительных тельцах, описанных им в овоцитах двукрылых насекомых и расположенных вблизи половых хромосом.

Меченые предшественники РНК включаются в политеменные хромосомы преимущественно в области «организатора ядрышка» (Pelling, 1959). Считают, что хромосомы и ядрышко являются первичными местами синтеза РНК (Taylor, 1960; Woods, 1960; Amano, Leblond, 1960; Eggera, 1963, и др.). Полагают, что в отличие от ДНК синтез РНК (включение H^3 -уридина) происходит более активно в эухроматиновом, чем в гетерохроматиновом, районе хромосом (Hsu, 1962). Автордиографическими исследованиями были

прослежены также процессы синтеза белка хромосомами (Sirlin, Kight, 1960; Ficq, Pavan, 1961). Меченые аминокислоты включаются в участки политенных хромосом, окрашивающиеся пиронином по Унна, т. е. содержащие РНК. Вероятно, синтез хромосомальных белков, как и цитоплазматических белков, связан с РНК.

В центрифугированных овоцитах было обнаружено высокое содержание ДНК в хромосомах типа ламповых щеток. Петли хромосом этого типа содержат РНК, ДНК и белок, и в этих участках наблюдается интенсивное включение меченых предшественников РНК (Izawa, Allfrey, Mirsky, 1963). Только после удаления РНК и белка концентрированным раствором KCl удалось обнаружить осевую нить петель, которая образована ДНК и является прямым продолжением хромонем.

Функции. Хромосомы являются основным структурным компонентом клетки, с которым связана передача генетической информации. На основании многочисленных исследований было установлено, совпадение распределения хромосом в ряду клеточных поколений с закономерностями передачи генетической информации. Численные и структурные изменения хромосом в естественных условиях и при различных экспериментальных воздействиях неизбежно влекут за собой изменения наследственных признаков, причем эти изменения зависят от особенностей поврежденной хромосомы и локализации в ней повреждения.

Выполнять роль передатчиков наследственной информации хромосомы могут благодаря своей способности к идентичной репродукции. Естественно, что структуры, ответственные за преемственность признаков в ряду клеточных поколений, должны размножаться на базе подобной же материнской структуры, которая используется в качестве «образца» и обладает способностью передаваться от клетки к клетке. Рассматривая хромосомы как основной носитель генетической информации, необходимо учитывать, что преемственность организации обеспечивается клеткой как целостной системой. В биологической литературе обсуждаются значение и удельный вес хромосомной (ядерной) и экстрахромосомной (цитоплазматической) наследственности (Р. Хагеман, 1962).

Одним из веских аргументов, иллюстрирующих значение хромосомной (ядерной) наследственности, служат эксперименты Hämmerling (1953) на одноклеточной водоросли ацетабуларии. Последняя состоит из базального ризоида, в котором расположено ядро, тонкого стебелька и апикального зонтика, обладающего выраженными видовыми отличиями. Форма зонтика детерминируется ядром. При межвидовых пересадках ризоида с ядром на стебелек другого вида (рис.

81) было обнаружено, что форма зонтика определяется видовыми свойствами пересаженного ядра. Так, при соединении ризоидов двух видов (*Acetabularia mediterranea* + *A. crenulata*) образуется зонтик, имеющий особенности обоих ви-

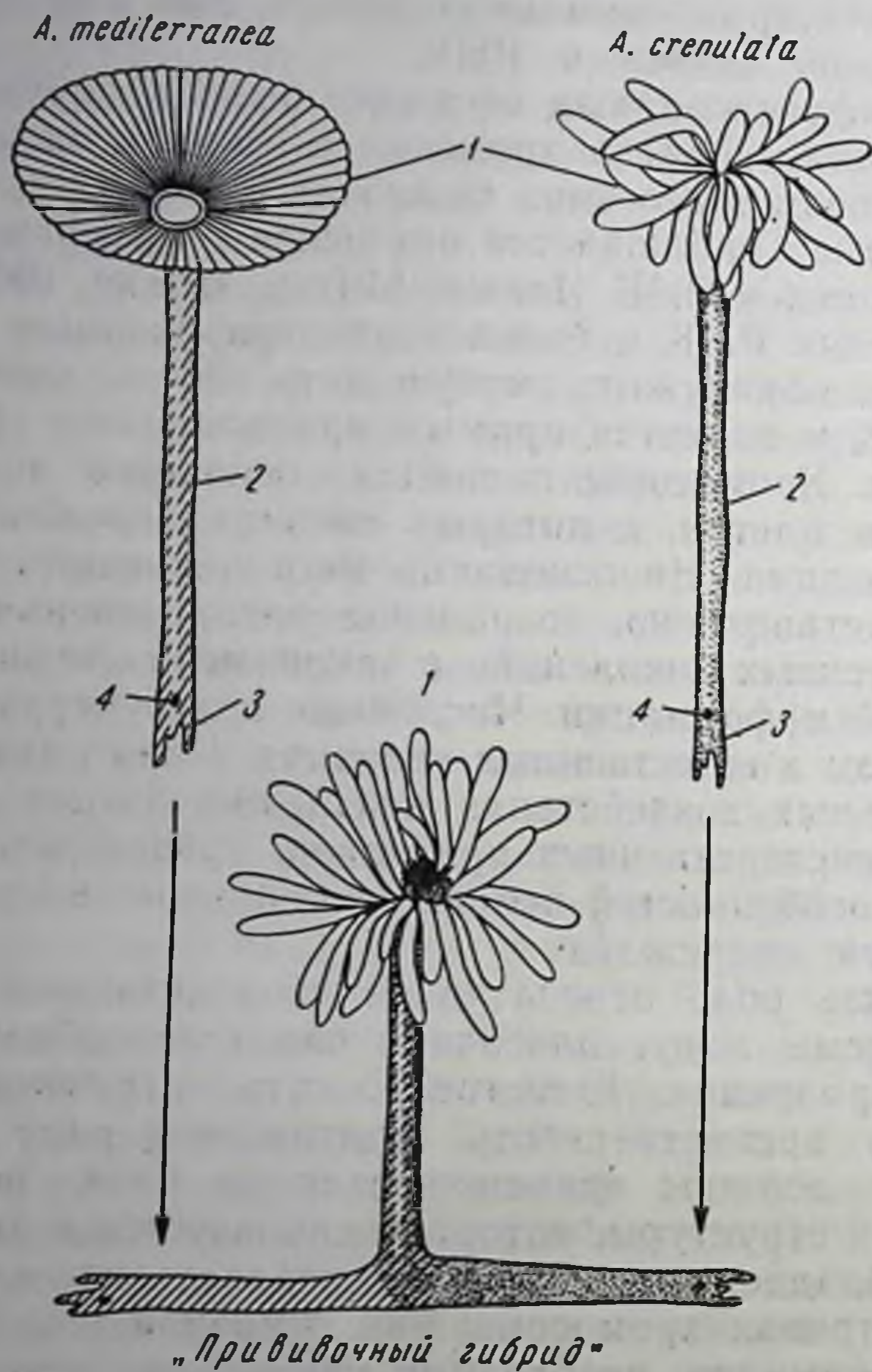


Рис. 81. «Гибрид» *Acetabularia* (опыт Гаммерлинга).

Вверху слева — *A. mediterranea*, сверху справа — *A. crenulata*. При прививке безъядерных отрезков стебелька (2) одного вида на содержащий ядро (4) ризоид (3) другого вида у «гибрида» (снизу) возникает зонтик (1) промежуточного типа. (По Сэджеру и Райну, 1964).

дов. Если на безъядерный стебелек *A. crenulata* пересадить ядро ризоида от *A. mediterranea*, то после удаления первого зонтика промежуточного типа развивается зонтик, типичный для вида, от которого было взято ядро.

Для анализа соотношений ядерной и цитоплазматической наследственности представляют интерес аналогичные экспе-

рименты с межвидовой трансплантацией ядер между *Amoeba proteus* и *A. discoides* (Danielli, 1963). Оба вида амёб различались по форме движения, величине ядер и по темпу размножения. В течение первых 6 лет после трансплантации эти признаки у гибридной особи соответствовали тому виду, от которого была взята цитоплазма. Но при этом иммунохимические исследования обнаружили уже молекулярную перестройку цитоплазмы в соответствии с особенностями вида, которому принадлежало ядро.

Значение ядра в передаче генетической информации наиболее демонстративно показали эксперименты по андрогенезу, т. е. по развитию яйца лишь с мужским ядерным материалом (Б. Л. Астауров, 1948). В этих экспериментах овоцит тутового шелкопряда после предварительного разрушения ядра (рентгенизацией или воздействием высокой температуры) оплодотворяли сперматозоидом другой расы. При совмещении чужеродных ядра и цитоплазмы было обнаружено, что при андрогенезе особей, отличающихся мутационными признаками, последние передаются через ядро.

Значение хромосом в передаче признаков от родителей к потомкам подтвердили блестящие успехи молекулярной генетики. Расшифровке генетического кода, которой увенчалось развитие этой молодой науки, предшествовали эксперименты, установившие, что носителем генетической информации служит основной химический компонент хромосом — ДНК. Еще в 1928 г. Ф. Гриффис обнаружил, что смесь живых неболезнетворных пневмококков (тип II, раса R) и убитых патогенных пневмококков (тип III, раса S) после введения мышам вызывает типичную картину инфекции. Изучение органов погибших животных показало, что в них содержится большое количество микробов расы S, хотя они предварительно и были убиты. При последующих исследованиях (Avery, McLeod, McCarty, 1944) было обнаружено, что наследственная трансформация неvirulentных пневмококков в virulentные произошла под влиянием ДНК убитой культуры virulentных бактерий.

Данные о нуклеиновой природе генетического материала получены также на системах вирус — клетка. Изучение вируса табачной мозаики и Т-фага, поражающего кишечную палочку, показало, что инфекционность и репродукция этих вирусов связаны с наследственной информацией, которую несут нуклеиновые кислоты. Другими исследованиями было определено, что изменения структуры молекулы ДНК при воздействии аналогов пуринов или пиримидинов, а также азотистой кислоты вызывают мутагенный эффект.

Вслед за доказательством генетической роли хромосомальной ДНК были уточнены представления о генах — ма-

териальных единицах наследственности. С. Бензер (1963) нашел, что гены фага T4, которые рассматривались классической генетикой как неделимые частицы, образованы из нескольких сотен элементарных мутационных единиц — мутонов, расположенных вдоль спирали ДНК. У гена гII фага T4 все мутоны объединены в две функциональные единицы — цистроны, каждый из которых контролирует определенные функции.

Развитие молекулярной генетики вместе с тем значительно расширило наши общие представления о наследственности. Стало очевидным, что пути, ведущие от генотипа к фенотипу, лежат через детерминацию типа обмена веществ клетки. Сущность наследственности заключается в передаче последующим поколениям контроля за видовыми особенностями биохимических реакций. При многочисленных исследованиях различных микроорганизмов было обнаружено, что разнообразные ферментативные реакции клетки находятся под контролем соответствующих генов. Мутация определенного гена, как правило, приводила к качественным или количественным изменениям фермента, контролирующего соответствующую биохимическую реакцию. Так, у нейроспоры мутация в локусах *ty-1* и *ty-2* полностью блокировала образование тирозиназы (см. подробнее в кн. Р. Сэджер, Ф. Райн, 1964).

Особый интерес представляет изучение гемоглобина S, который образуется при серповидноклеточной анемии — заболевании, возникающем у человека в результате мутации одного гена. Генная мутация цепи ДНК при образовании гемоглобина S приводит к замещению одной аминокислоты в полипептидной цепи белка. Пептид-4 гемоглобина S в отличие от нормального гемоглобина A вместо двух остатков глютаминовой кислоты и одного остатка валина содержит один остаток глютаминовой кислоты и два остатка валина (Ingram, 1957).

Эти и аналогичные наблюдения привели к гипотезе «один ген — один фермент» (Beadle, 1945), согласно которой один ген определяет специфичность действия одного фермента и мутация в области данного гена всегда приводит к изменению активности контролируемого им фермента. Эта гипотеза положила начало поискам, которые увенчались раскрытием способа записи на молекуле ДНК генетической информации, т. е. привела к расшифровке генетического кода.

Уже работы Инграм с гемоглобином S показали, что ген определяет последовательность аминокислот в пептидной цепи. Эта связь особенно отчетливо выявилась в исследованиях М. Ниренберг и Г. Маттеи (1963). Они обнаружили, что прибавление к бесклеточной системе кишечной палочки

РНК, состоящей только из урацила (полиуридиловая кислота), стимулирует синтез полипептида, который состоит исключительно из фенилаланина (см. табл. 18). Таким образом, было найдено, что полиуридиловая кислота, состоящая только из урацила, несет информацию, определяющую включение в белок фенилаланина.

Генетические исследования мутантных фагов Т4, полученных воздействием акридина, и мутантных вирусов табачной мозаики позволили проследить корреляцию между

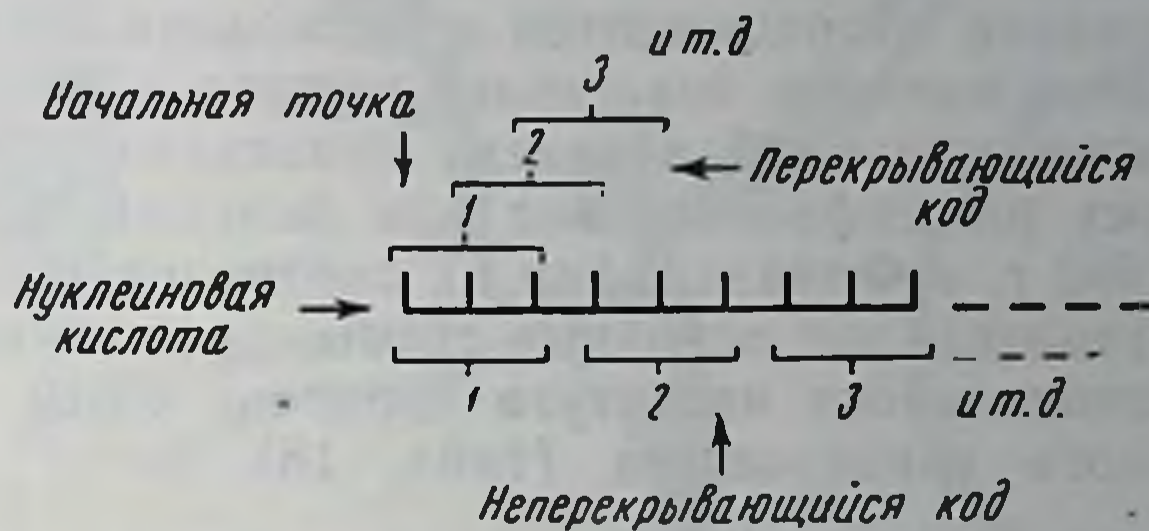


Рис. 82. Перекрывающийся и неперекрывающийся коды.

Короткими вертикальными линиями изображены основания нуклеиновых кислот. Схема основана на представлении о триплетном коде (по Крику, Барнетту, Бреннеру и Уоттс-Тобину, 1963).

последовательностью оснований в нуклеиновой кислоте и аминокислотным составом белка (Ф. Крик, Л. Барнетт, С. Бреннер, Р. Уоттс-Тобин, 1963; Х. Виттман, 1963, и др.). Этими экспериментами было показано, что выключение (воздействие производными акридина) или замещение одного основания другим (воздействие азотистой кислотой) приводят к изменениям последовательности аминокислот в белке.

Анализ многочисленных опытов такого типа и теоретические расчеты привели к представлениям, что генетическая информация в нуклеиновой кислоте «записана» путем определенной последовательности оснований, причем число оснований, кодирующих одну аминокислоту, равно трем (триплет). Последовательностью расположения оснований в триплете зашифрована определенная аминокислота. Разные сочетания из 4 оснований могут дать 64 различных триплета ($4^3 = 64$), т. е. больше вариантов, чем необходимо для кодирования 20 различных аминокислот, встречающихся во всех известных белках. Избыток триплетов можно было связывать либо с наличием «пустых», «бессмысленных» триплетов («запяты» в коде), либо с тем, что каждая аминокислота кодируется не одним, а несколькими триплетами. Анализ этих возможностей заставил отдать предпочтение последней

(«вырожденный код»). Специальных «запятых», отделяющих триплеты друг от друга, обнаружить не удалось.

Наиболее приемлемой оказалась также точка зрения, что генетический код является неперекрывающимся (рис. 82) и триплеты («кодона»), кодирующие по одной аминокислоте, последовательно расположены друг за другом вдоль цепи нуклеиновой кислоты. Действительно, при выключении или замещении лишь одного основания изменяется только одна аминокислота, а не две — три, как это было бы при перекрывающемся коде.

На основании экспериментов с использованием синтетических полинуклеотидов известного состава и экспериментов с выключением или прибавлением отдельных оснований в ДНК удалось расшифровать код для большей части аминокислот. В 1962 г. в Филадельфии на специальном симпозиуме были сопоставлены две основные схемы, предложенные группой из Национального института здоровья США и группой Нью-Йоркского университета (табл. 18).

Таблица 18
Генетический код аминокислот (по разным данным из Abelson, 1963)

Аминокислота	По данным Национального института здоровья	По данным Нью-Йоркского университета
Цистеин	УУГ или УГГ	ГУУ
Гистидин	АЦЦ	АУЦ АЦЦ
Изолейцин	УУА	УУА ААУ
Лейцин	ГУУ ЦУУ АУУ (УУУ)	УАУ УУЦ УГУ
Лизин	ААА ААЦ ААГ ААУ	АУА ААА
Фенилаланин	УУУ	УУУ УУЦ
Пролин	ЦЦЦ ЦЦУ ЦЦА ЦЦГ	ЦУЦ ЦЦЦ ЦАЦ
Серин	УЦГ УУЦ УЦЦ	ЦУУ ЦЦУ АЦГ
Треонин	ЦАЦ ЦАА	УЦА АЦА ЦГЦ
Тирозин	УАУ	АУУ
Валин	УГУ	УУГ
Аргинин	ЦГЦ	ГУЦ ГАА ГЦЦ
Глицин	УГГ	ГУГ ГАГ ГЦГ
Триптофан	УГГ	УГГ
Глютаминовая кислота	АЦА АГА АУГ	ААГ АУГ
Метионин	УГА	УГА
Аланин	ЦЦГ	ЦУГ ЦАГ ЦЦГ
Глютамин	АЦА	АГГ АЦА
Аспаргин	АЦА	УАА ЦУА ЦАА
Аспаргиновая кислота	АЦА	ГУА ГЦА

Примечание. А — аденин; Г — гуанин; У — урацил; Ц — цитозин.

Уже простое сопоставление этих двух предложенных кодов свидетельствует о предварительном характере ряда

данных и о необходимости дополнительных уточнений. Пока остается также неясным, распространяются ли обнаруженные закономерности не только на бактерии и вирусы, но и на более сложные клетки высших организмов. Вместе с тем

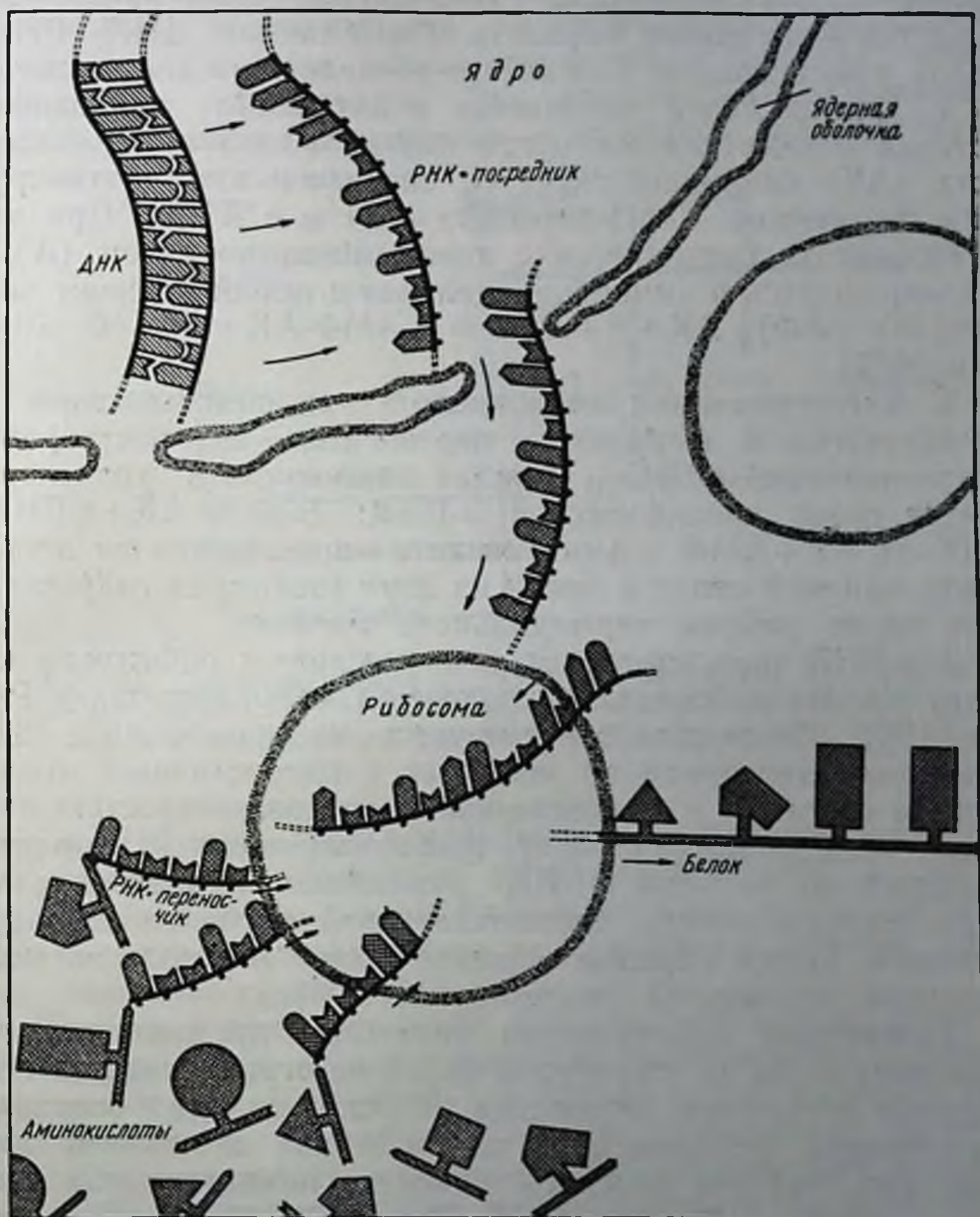


Рис. 83. Схема синтеза белка в клетке при участии ДНК, РНК-посредника (информационной РНК) и РНК-переносчика (транспортная РНК) (по Крику, 1962).

приведенные выше факты не оставляют сомнений в правильности путей поисков и общего принципа — зависимости аминокислотного состава белка от последовательности оснований в нуклеиновой кислоте.

Наряду с изучением способа «записи» генетической информации на молекуле ДНК удалось выяснить пути переноса этой информации от гена к белку (рис. 83). Эта передача информации осуществляется через «переносчики», которыми служат различные РНК. Схематически приведенные представления можно выразить общей схемой: ДНК → РНК → белок и весь процесс биосинтеза разделить на три этапа.

1. Синтез белка начинается с активации аминокислот, которая осуществляется путем переноса энергии. Аминокислота (АК) взаимодействует со специфическим активирующим ферментом («pH-фермент» — E) и с АТФ. При этом аминокислота соединяется с аденозинмонофосфатом (АМФ) и превращается в аминоациладенилат с освобождением пирофосфата (ФФ): $AK + E + АТФ = E-АМФ-АК + ФФ$ (Ф. Липпман, 1962).

2. Активированная аминокислота при помощи того же активирующего фермента переносится на растворимую (транспортную) s-РНК. Каждая аминокислота транспортируется своей специфической s-РНК: $E-АМФ-АК + s-РНК \rightarrow РНК-АК + E + АМФ$. Аминокислота присоединяется посредством эфирной связи к одной из двух свободных гидроксильных групп рибозы терминального аденина.

3. s-РНК транспортирует аминокислоту к рибосомам (см. главу V). На рибосомах расположена информационная РНК (m-РНК). Последняя синтезируется на хромосомной ДНК как комплементарная ей молекула с гомологичным нуклеотидным составом и с идентичной последовательностью оснований (С. Спигельман, 1964). Информационная РНК служит матрицей, на которой s-РНК «укладывает» аминокислоты в последовательности, соответствующей расположению нуклеотидов. Таким образом осуществляется контроль за молекулярной структурой синтезируемого белка.

Дальнейшие исследования позволяют предполагать, что этим контролем за структурой белка не ограничивается генетическая регуляция процессов биосинтеза. На основании генетических экспериментов на бактериях сложились представления, что эти процессы в клетке находятся под двойным контролем (Ф. Жакоб, Ж. Моно, 1962, 1964). Структурные гены определяют лишь молекулярную структуру белка, тогда как процесс передачи информации в свою очередь контролируется другими генами — «генами-регуляторами» и «генами-операторами», действие которых осуществляется путем воздействия на синтез m-РНК и приводит к изменениям скорости процессов синтеза белка. Влияние гена-регулятора на передачу информации происходит посредством особого вещества — репрессора, образующегося в цитоплазме. Действие репрессора осуществляется через ген-оператор, на

уровне которого и происходит торможение переноса информации от структурного гена к белку (рис. 84). Предполагают, что ген-регулятор ведет себя независимо от структурных генов и гена-оператора, тогда как последние пространственно и функционально составляют единую систему. Схема Жакоба и Моно допускает, что соответствующие метаболиты могут подавлять или активировать взаимодействие между репрессором и оператором. Так, например, было показано, что синтез триптофансинтетазы у кишечной палочки стиму-

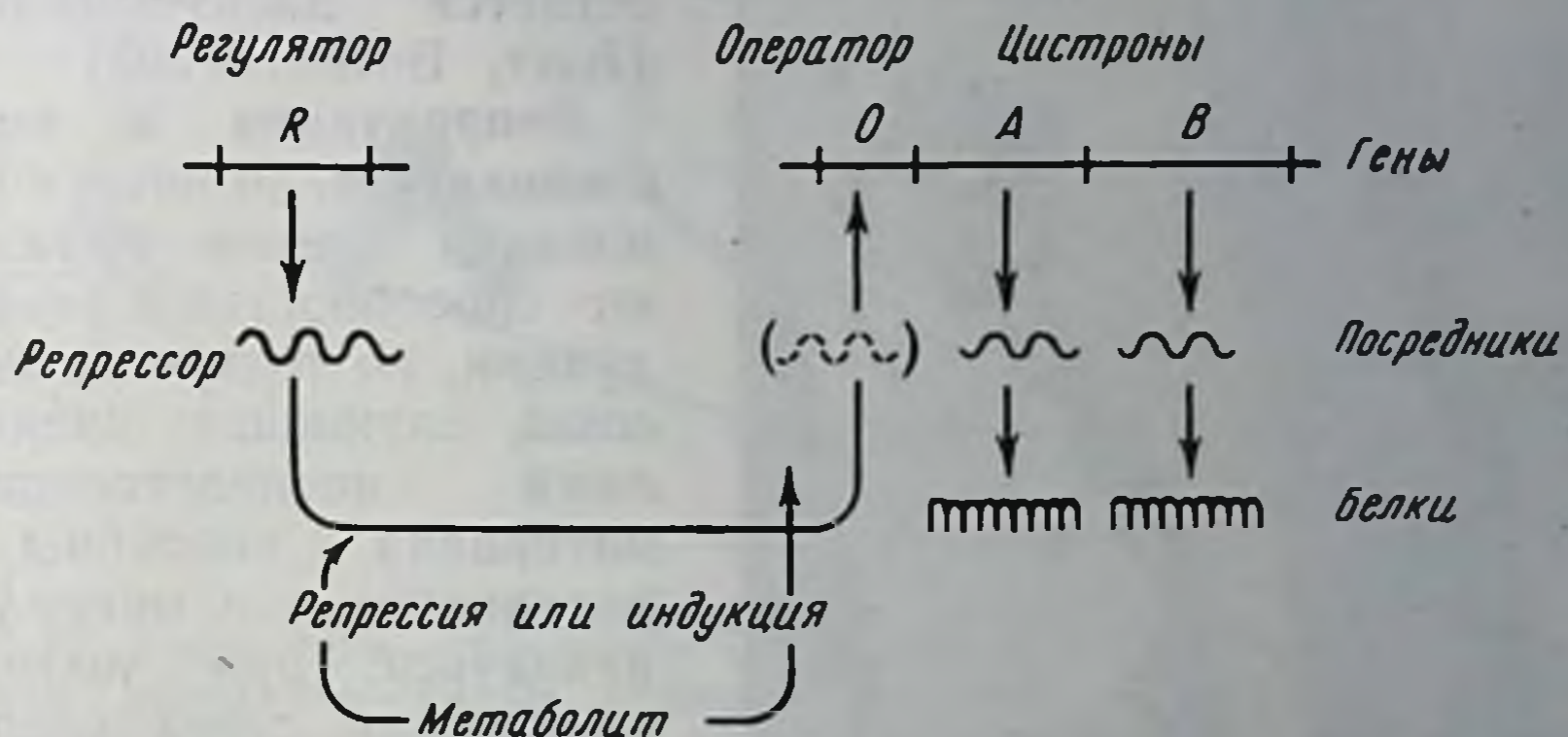


Рис. 84. Схема регуляции структурных генов (A, B) «генами-регуляторами» (R), «генами-операторами» (O) посредством репрессии или индукции (по данным Жакоба и Моно, 1962).

лируется в среде без триптофана и подавляется (явление репрессии) при добавлении этой аминокислоты. У той же кишечной палочки синтез β -галактозидазы после прибавления галактозида усиливается в несколько тысяч раз (явление индукции фермента).

Как бы в дальнейшем ни изменилась рабочая гипотеза Жакоба и Моно, общие принципы генетической регуляции синтеза белков (ферментов) в клетке представляются перспективными и, очевидно, получат дальнейшее развитие. Более того, кажется вероятным, что генетический контроль распространяется не только на синтез белка, но и на другие внутриклеточные взаимоотношения, осуществляя интеграцию всей динамики клеточной жизнедеятельности. К сожалению, поиски в этом направлении только начинаются, а возможность распространения этих представлений на клетки высших организмов пока неясна.

Схема Жакоба и Моно, вероятно, уже в ближайшее время будет дополнена рядом новых данных. Одни из них заключаются в том, что регуляция синтеза информационной РНК осуществляется, по-видимому, не только цитоплазматиче-

скими репрессорами, но и компонентами самого ядра и, в частности, гистонами хромосом. Изучение роли гистонов в генетической функции хромосом началось совсем недавно, но первые экспериментальные данные показывают, что при удалении гистонов из ядра скорость синтеза м-РНК увеличивается в несколько раз (Latil, 1963; Bloch, 1963; Allfrey, Littau, Mirsky, 1963).

Специфичность этого влияния гистонов пока остается дискуссионной (Barr, Butler, 1963).

Репродукция и восстановление. Многие компоненты клетки обладают способностью к репродукции, но только хромосомы, служащие носителями наследственного материала, способны к репликации, т. е. могут удваиваться при полном сохранении своих специфических особенностей. Такая репликация осуществляется путем копирования предсуществующей материнской структуры, которая служит шаблоном для дочерних хромосом.

Наиболее четко репликацию хромосом удалось проследить, используя метод авторадиографии с H^3 -тимидином, избирательно включающимся в хромосомальную ДНК (рис. 85). На клетках различных растений (*Vicia faba*, *Crepis*, *Bellevalia*), на клетках млекопитающих (человек, китайский хомячок) и насекомых (кузнечик) Taylor (1957, 1964) удалось проследить судьбу редуплицированной хромосомы в течение 2—3 последовательных клеточных делений. При первом делении после прибавления изотопа обе дочерние хромосомы оказались мечеными. После следующего деления в отсутствие H^3 -тимидина на меченые хромосомы подверглись репликации с образованием одной дочерней меченой и одной немеченой хромосом (рис. 86). Аналогичные данные были получены на клетках культуры лейкоцитов человека (Prescott, Bender, 1963). Результаты этих экспериментов позволяют полагать, что репли-

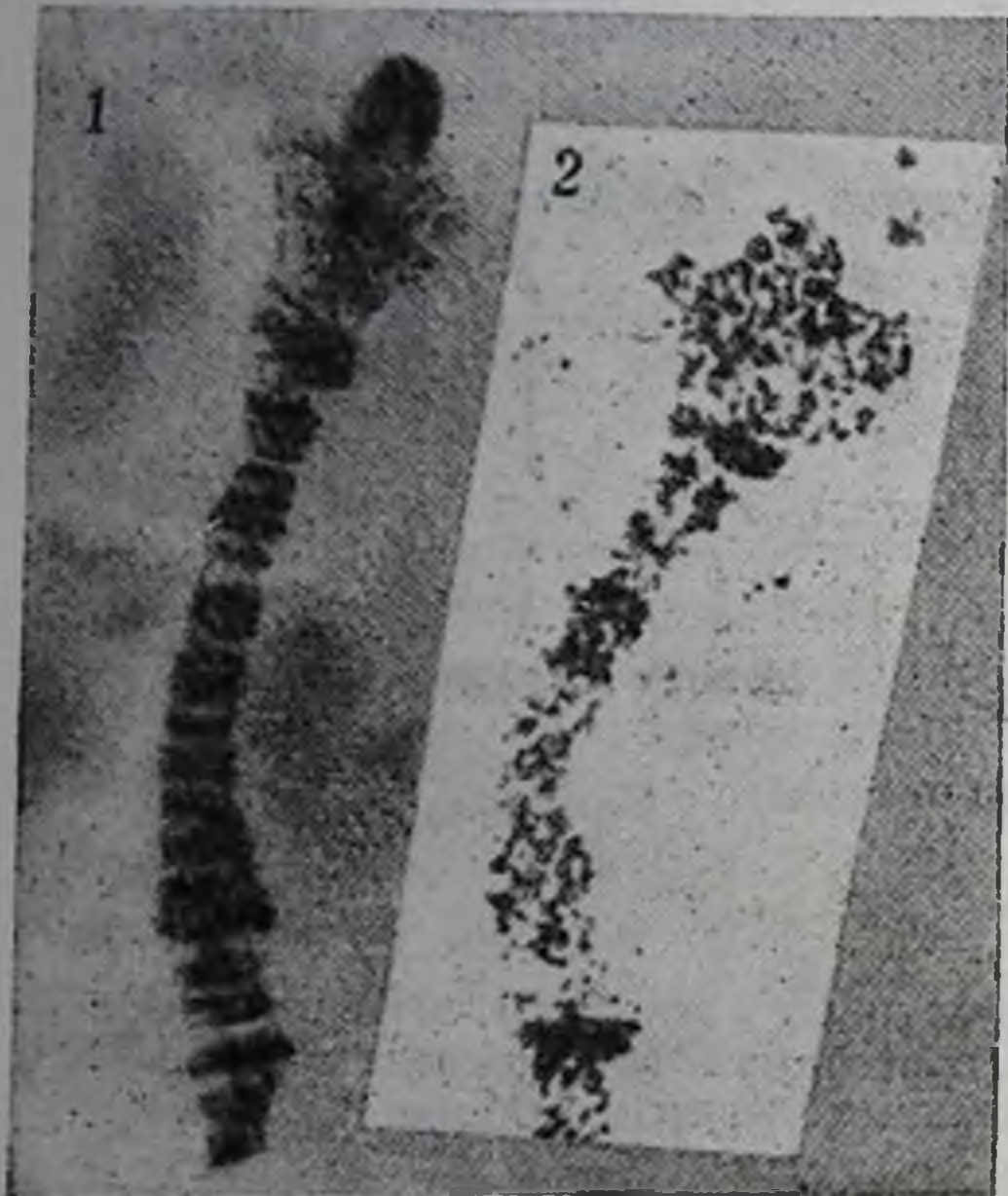


Рис. 85. Сегменты политенных хромосом из слюнной железы (по Fieg, Ravan, Brachet, 1958).

1 — после окраски ацетоорсеином; 2 — автограф после введения H^3 -тимидина.

кация хромосом осуществляется путем копирования предсуществующей материнской структуры, которая служит шаблоном для дочерних хромосом.

кация хромосом сопряжена с разделением образующих их парных цепей ДНК, и каждая из них служит матрицей для образования комплементарных молекул (полуконсервативный механизм репликации).

Это заключение подтверждается биохимическими исследованиями репликации ДНК. При изучении синтеза ДНК из дезоксирибонуклеозид-трифосфатов, аденина, гуанина, цитозина и тимина в бесклеточной системе из кишечной палочки нашли, что для осуществления этой реакции необходимо присутствие ДНК в виде «затравки» (Kornberg, 1960). При

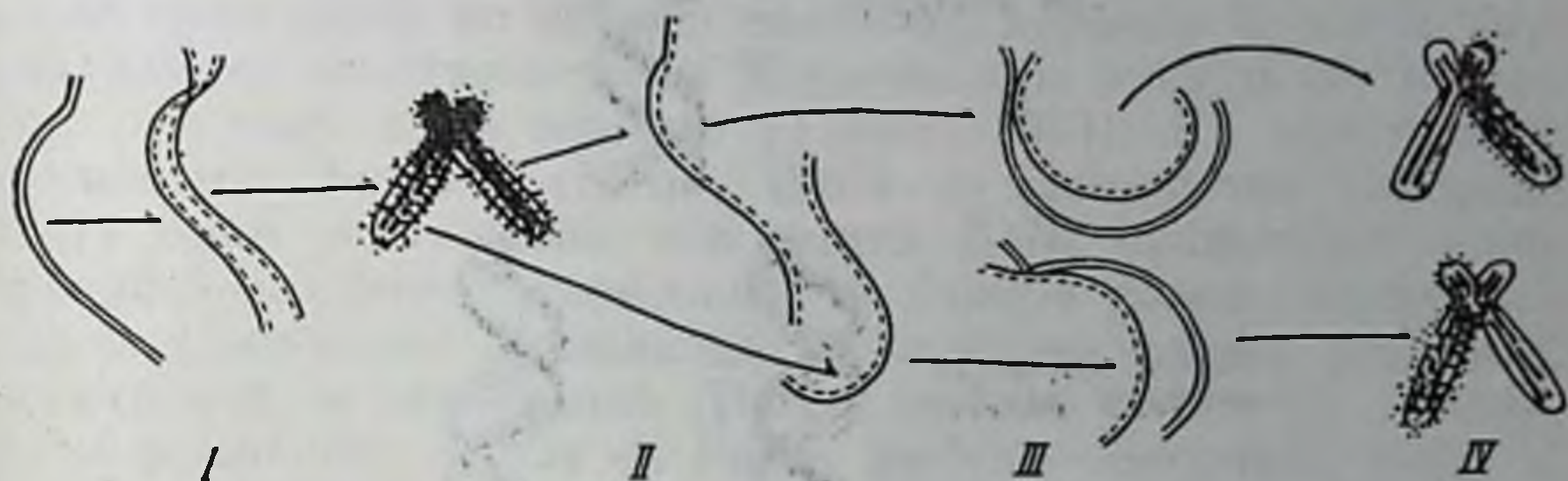


Рис. 86. Репликация хромосомы (схема опыта с H^3 -тимидином). Пунктирные линии изображают меченую хроматиду, а сплошная линия — немеченую. Точки изображают зерна на автографе (по Тейлору, 1964).

I — удвоение в присутствии H^3 -тимидина; *II* — 1-я метафаза после включения метки; *III* — удвоение в отсутствие H^3 -тимидина; *IV* — 2-я метафаза после включения метки.

этом оказалось, что между структурой разных «ДНК-затравок» и образующимися «дочерними» молекулами всегда существует поразительное сходство. Результаты этих опытов свидетельствуют, что «затравка» служила матрицей для репликации ДНК.

К аналогичным выводам привело изучение синтеза ДНК путем введения меченых предшественников. Особенно демонстративные данные были получены в экспериментах с замещением в ДНК обычного азота N^{14} тяжелым азотом N^{15} путем содержания нескольких поколений кишечной палочки в среде с $\text{N}^{15}\text{H}_4\text{Cl}$ и последующим замещением ее на среду с N^{14} (Meselson, Stahl, 1958). N^{15} -ДНК можно было отделить от обычной N^{14} -ДНК путем центрифугирования в градиенте плотности хлористого цезия. После первого удвоения ДНК в лизатах бактерий была обнаружена N^{15} -ДНК. После репликации в присутствии N^{14} образовалась ДНК, плотность которой занимала промежуточное положение между меченой и нормальной молекулой. При нагревании эта промежуточная ДНК распадалась на N^{15} -ДНК и N^{14} -ДНК, т. е. она представляла собой «гибридную» молекулу, состоящую из разных цепей ДНК.

Таким образом, автордиографические и биохимические исследования приводят к аналогичным выводам: механизм репликации ДНК (хромосом) включает образование новых полинуклеотидных молекул на матрице предсуществующих цепей, по которым копируются «дочерние» молекулы (рис. 87).

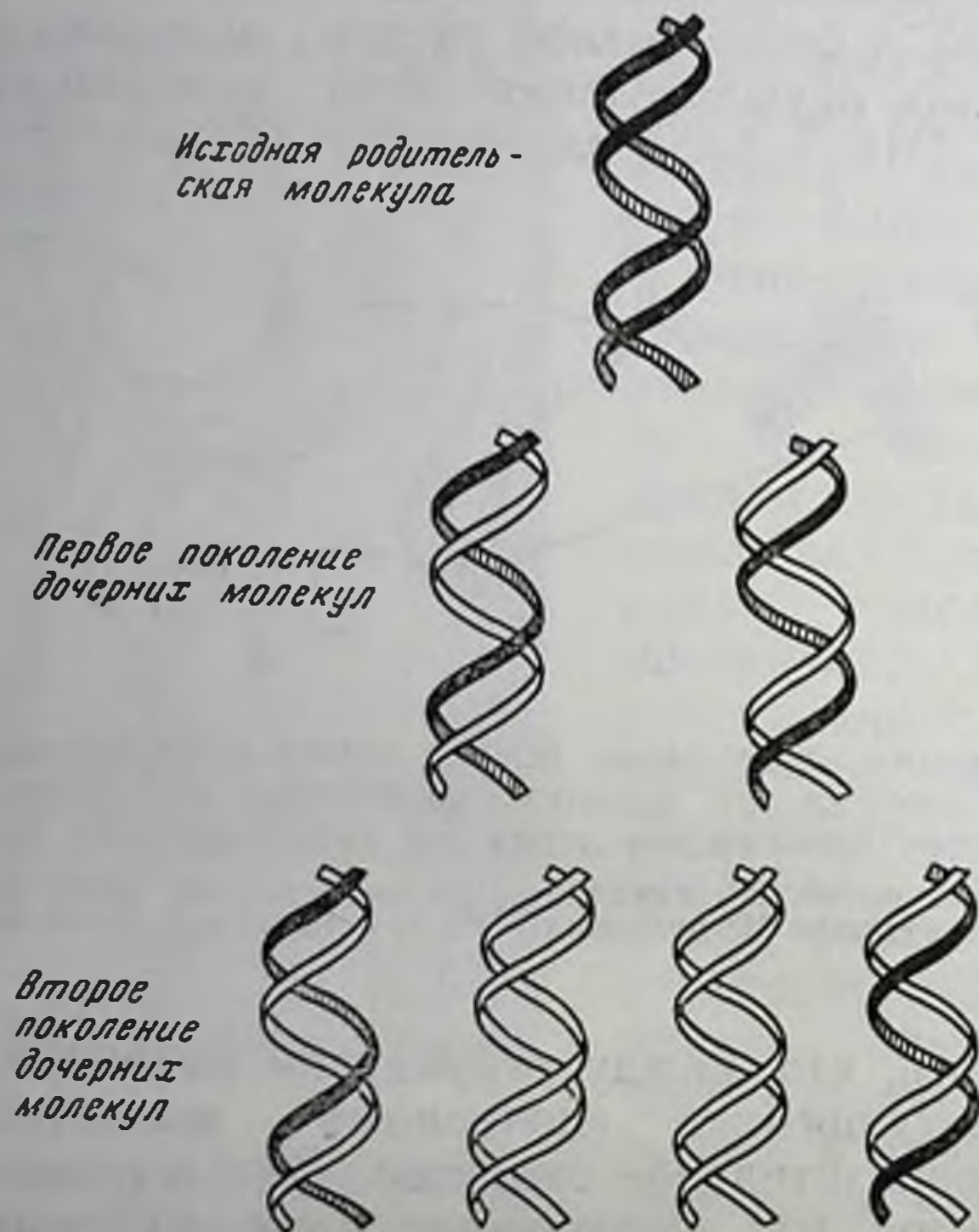


Рис. 87. Модель репликации ДНК по полуконсервативному механизму. Родительские цепи двойной спирали ДНК изображены черными, а вновь образовавшиеся комплементарные цепи — белыми.

Репликация ДНК в разных клетках происходит в различные периоды интерфазы. Этот период синтеза ДНК (период S) отделен небольшими промежутками времени от окончания предыдущего митоза (пресинтетический период — G_1) и от начала следующего митоза (постсинтетический период — G_2). Длительность периода синтеза (репликации) ДНК варьирует в разных клетках и колеблется в пределах от 2 (культура фибробластов) до 30 часов (эпидермис мыши). Время репликаций ДНК (см. главу XVI, табл. 22) всегда приближенно, так как рядом автордиографических исследований

с H^3 -тимидином было обнаружено, что репликация ДНК в отдельных хромосомах и даже в разных сегментах одной хромосомы происходит асинхронно. Так, например, репликация ДНК в X-хромосомах жузничика происходит дольше, чем в остальных аутосомах, причем синтез ДНК в гетерохроматиновых районах идет интенсивнее и быстрее, чем в эухроматиновых районах (Lima de Faria, 1959a, б). В клетках самки китайского хомячка в культуре ткани репликация обеих X-хромосом происходит в разное время. В клетках самцов репликация Y-хромосомы и длинного плеча X-хромосомы происходит во вторую половину периода S, тогда как репликация короткого плеча X-хромосомы происходит в первую половину этого периода (Taylor, 1960). На политенных хромосомах *Smithia* (Sirlin, 1960) и *Chironomus* (Sengün, 1961) было обнаружено, что синтез ДНК происходит асинхронно в различных хромосомах и даже в разных сегментах одной хромосомы. В лейкоцитах человека также отмечали асинхронность репликации ДНК в разных сегментах каждой из 46 хромосом (Lima de Faria, Reitalu, Bergman, 1961) и более позднюю репликацию X-хромосомы (Mittwoch, 1963). При наличии в хромосомном наборе человека лишних и аномальных половых хромосом (см. стр. 283) репликация в них ДНК происходит позже, чем в остальных хромосомах (Grumbach, Morishima, Taylor, 1963; Giannelli, 1963).

В отличие от цитоплазматических компонентов уникальная структура хромосом, воспроизводящаяся путем копирования по матрице, не обладает способностью к регенерации. Поврежденные или утраченные фрагменты хромосомы не восстанавливаются, и это неизбежно вызывает глубокие нарушения жизнедеятельности клетки, а для половых клеток оказывается летальным. Хромосомы обладают лишь своеобразной восстановительной способностью, которая выражается в воссоединении ее отдельных оторванных фрагментов. При повреждении хромосомы (например, радиацией) происходят разрывы ее в одном или нескольких местах (см. ниже) с образованием отдельных фрагментов. Около 90—95% таких фрагментов могут воссоединиться между собой или с сохранившейся основной частью хромосомы, приводя либо к обменов, либо к воссозданию исходной конфигурации хромосомы. Эта реакция сохраняется лишь в течение относительно короткого времени после повреждения.

Процесс воссоединения не является простым физическим слиянием концов фрагментов, а связан с определенными ферментативными, энергетическими реакциями. Различные воздействия, нарушающие дыхание клетки (цианиды, окись углерода, динитрофенол, понижение температуры), препятствуют воссоединению хромосомных фрагментов, тогда как

прибавление к среде АТФ способствует их воссоединению (Wolff, 1961).

Патология. Под влиянием различных химических и физических факторов хромосомы претерпевают глубокие изменения, которые выражаются либо в субмикроскопических изменениях молекулярной организации (точечные или генные мутации), либо в структурных микроскопических изменениях внутри хромосомы (абберации). Повреждение хромосом первоначально выражается в распаде их на отдельные фрагменты. Позже фрагменты воссоединяются между собой. Так как воссоединение носит случайный характер, то оно приводит к структурным изменениям хромосом. Описывают четыре типа таких изменений: 1) нехватка, или делеция, — утрата сегмента хромосомы в результате ее двойного или одиночного (для теломеры) разрыва; 2) удвоение, или дупликация, — добавление лишнего сегмента; 3) транслокация — перемещение участка хромосомы в пределах данной хромосомы или в другую, негомологичную хромосому; 4) инверсия — перераспределение материала внутри хромосомы, причем один сегмент расположен в инвертированном положении.

Наиболее полно изучены радиационные повреждения хромосом (Н. П. Дубинин, 1961). В зависимости от стадии клеточного цикла, на которую действует радиация, возникают хромосомные (интерфаза) или хроматидные (поздняя интерфаза, профаза) перестройки. Они возникают при этом в результате одиночного (одноударные абберации), двойного или множественного (двух-, трехударные и т. д.) разрыва.

С развитием медицинской цитогенетики был обнаружен ряд заболеваний человека, связанных с различными аномалиями кариотипа и отдельных хромосом. К настоящему вре-

Таблица 19

Основные нарушения в системе половых хромосом человека

Заболевание	Пол	Число хромосом	Число ауто-сом	Половые хромосомы	Фенотипические проявления
Синдром Клейнфельтера	♂	47	44	XXV	Атрофия гонад, стерильность, умственная отсталость
Синдром Тернера	♀	45	44	XO	Задержка роста и недоразвитие гонад, умственная отсталость
«Сверхженщина»	♀	47	44	XXX	Недоразвитие гонад, бесплодие, умственная отсталость

мени известно около 500 заболеваний, возникающих в результате точечных или структурных изменений хромосом (Дж. Ниль, У. Шэлл, 1958; В. П. Эфроимсон, 1960; 1964; А. А. Прокофьева-Бельговская, 1963). Различные хромосомные болезни могут быть связаны с разными изменениями: 1) с количественными изменениями половых хромосом (мо-



Рис. 88. Нормальный хромосомный набор женщины (по А. А. Прокофьевой-Бельговской, 1963).

носомия или полисомия); 2) с количественными изменениями аутосом (трисомия); 3) с триплоидией; 4) с транслокацией; 5) с нехватками.

Наиболее изучены нарушения в системе половых хромосом (табл. 19). Эта группа хромосомных болезней возникает вследствие нерасхождения половых хромосом во время развития яйцеклетки или при редукционном делении сперматоцитов.

Каждая из этих форм хромосомных болезней (рис. 88, 89) встречается приблизительно у 0,1—0,15% населения. Экспериментальные данные показывают, что частота нерасхождений хромосом во время мейотического деления значительно повышается при действии ионизирующей радиации.

Имеются наблюдения, что частота этой патологии повышается также с возрастом матери.

Хромосомные аномалии связаны не только с изменениями системы половых хромосом. Аналогичные отклонения бывают и в отношении аутосом. Так, при синдроме Дауна, при котором наблюдается монголоидность, конституциональное слабоумие, бесплодие, в клетках обнаружено 47 хромосом, при-

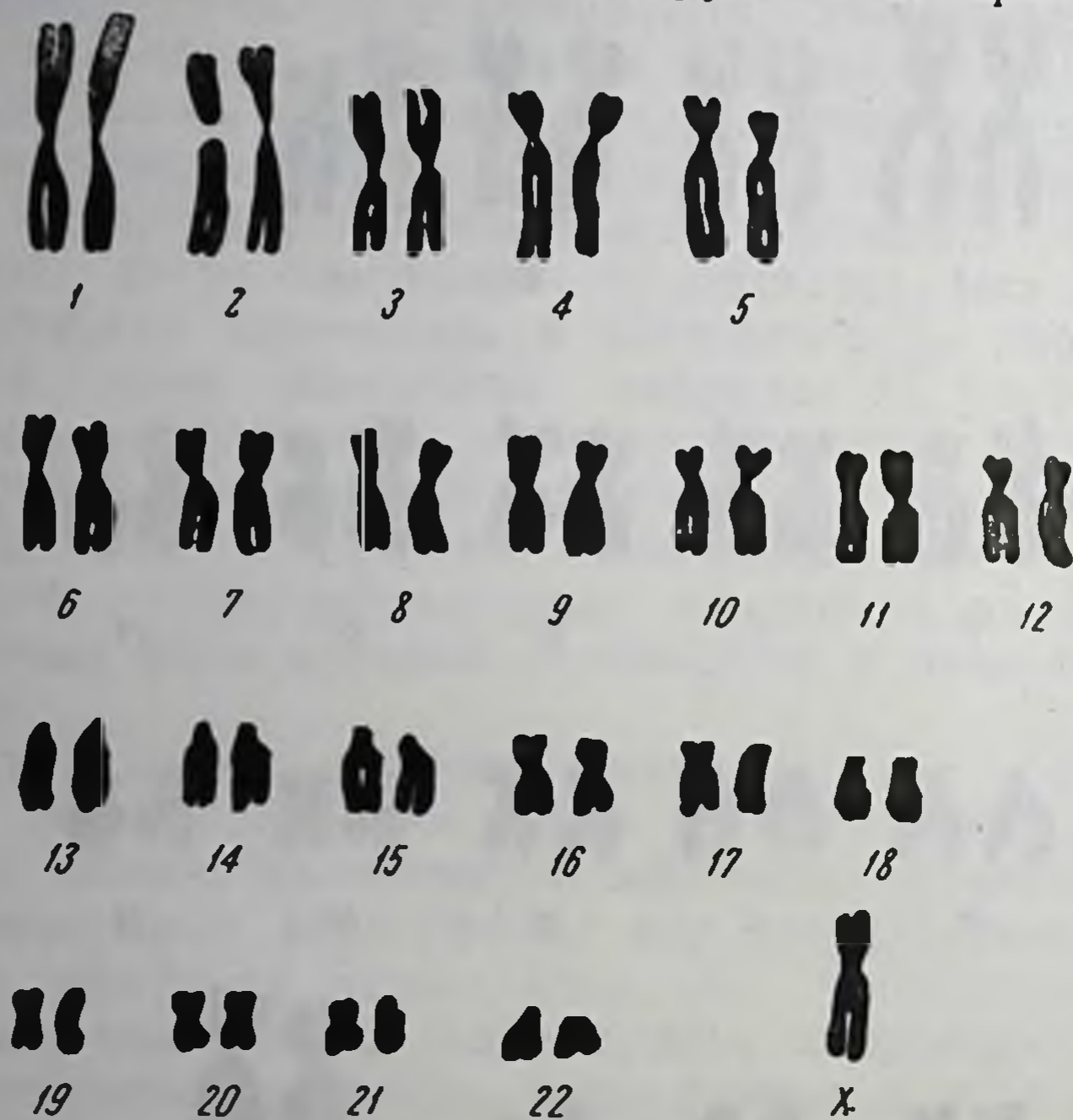


Рис. 89. Хромосомный набор больной с синдромом Тернера (по А. А. Прокофьевой-Бельговской, 1963).

чем увеличение числа хромосом связано с трисомией (три гомологичные хромосомы) по 21-й хромосоме. Недавно приводилось описание трисомиков также по 17-й хромосоме и по одной из хромосом группы 13—15. Известен ряд других системных заболеваний (например, серповидноклеточная анемия, фенилкетонурия и др.), развитие которых связано с точечными или структурными изменениями хромосом.

С развитием мутационной концепции рака (Дж. Гексли, 1960; Л. Стронг, 1961) многочисленными исследователями находили хромосомные аномалии в раковой клетке. Хотя число хромосом широко варьирует в разных опухолях и даже в разных клетках одной опухоли, раковые клетки обычно отличаются увеличенным числом хромосом, анеуплоидией и полиплоидией. Как число, так форма и размеры хромосом раковой клетки варьируют в более широких диа-

пазонах, чем в нормальных клетках. В отличие от нормальных клеток в них не всегда можно выделить гомологичные пары хромосом. Полагают, что изменчивость хромосом раковой клетки является основой для быстрой адаптации путем отбора клеток, наиболее приспособленных к новым условиям существования.

В разных опухолях неоднократно наблюдали аномалии отдельных хромосом, которые рассматривали как специфические. Так, например, в асцитной саркоме крыс отмечали две большие, метацентрические V-образные хромосомы, отсутствовавшие в нормальных клетках крыс. При развитии хронической миелоидной лейкемии человека определяли укорочение длинного плеча 21-й хромосомы («филадельфийская хромосома»). Однако вопрос о специфичности и причинной последовательности подобных изменений остается пока открытым.

ЛИТЕРАТУРА

- Астауров Б. Л. Успехи совр. биол., 1948, 25, 1, 49—88.
Белар К. Цитологические основы наследственности. М., 1934.
Бензер С. Тонкая структура гена. В кн.: Молекулярная генетика. М., 1963, 11—32.
Бреславец Л. П. Полиплоидия в природе и опыте. М., 1963.
Вагнер Р. и Митчел Г. Генетика и обмен веществ. ИЛ, 1958.
Виттман Х. Некоторые подходы к расшифровке генетического кода. В кн.: Молекулярная генетика. М., 1963, 51—68.
Гексли Дж. Рак как биологическая проблема. М., 1960.
Дубинин Н. П. Проблемы радиационной генетики. М., 1961.
Дубинин Н. П. Молекулярная генетика и действие излучений на наследственность. М., 1963.
Жакоб Ф., Моно Ж. Детерминация и специфическая регуляция синтеза белка. Труды V Международного биохимического конгресса. Симпозиум I. М., 1962, 157—179.
Жакоб Ф., Моно Ж. Регуляция активности генов. В кн.: Регуляторные механизмы клетки. М., 1964, 278—306.
Крик Ф., Барнетт Л., Бреннер С., Уоттс-Тобин Р. Общая природа генетического кода для белков. В кн.: Молекулярная генетика. М., 1963, 51—68.
Липпман Ф. Проблема синтеза белка. Труды V Международного биохимического конгресса. Симпозиум I. М., 1962, 147—156.
Лобашов М. Е. Генетика (курс лекций). ЛГУ, 1963.
Мирский А., Осава С. Интерфазное ядро. В кн.: Функциональная морфология клетки. М., 1963, 9—68.
Мюнцинг А. Генетические исследования. М., 1963.
Ниль Дж., Шэлл У. Наследственность человека. М., 1958.
Ниренберг М., Маттеи Г. Зависимость антител белка в бесклеточной системе. В кн.: Молекулярная генетика. М., 1963, 69—92.
Пайнтер Т., Бриджес К. Строение гигантских хромосом. М., 1937.
Поллистер А. У. Нуклеопротейды ядра. В кн.: Современные проблемы цитологии. М., 1955, 91—103.
Прокофьева-Бельговская А. А. Цитология, 1963, 5, 1, 62—76.
Прокофьева-Бельговская А. А. Цитология, 1963, 5, 5, 487—498.

- Сахаров В. В. Биол. журн., 1938, 7, 545.
- Спигельман С. Связь между информационной РНК и ДНК. В кн.: Регуляторные механизмы клетки. М., 1964, 111—133.
- Стронг Л. Генетическая концепция происхождения рака. В кн.: Генетика. М., 1961, 12—49.
- Сэджер Р., Райн Ф. Цитологические и химические основы наследственности. М., 1964.
- Тейлор Дж. Репликация и организация ДНК в хромосомах. В кн.: Молекулярная генетика. М., 1964, 78—125.
- Хагеман Р. Плазматическая наследственность. М., 1962.
- Эфроимсон В. П. Цитология, 1960, 2, 3, 364—370.
- Эфроимсон В. П. Введение в медицинскую генетику. М., 1964.
- Abelson J. Science, 1963, 139, 3556, 774—776.
- Allfrey V. G., Littau V. C., Mirsky A. E. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1963, 49, 3, 414—421.
- Аmano M., Leblond C. P. Exp. Cell Res., 1960, 20, 1, 250—253.
- Avery O. T., McLeod C. M., McCarty M. Exp. Med., 1944, 79, 137—158.
- Barr G. C., Butler J. A. V. Nature, 1963, 199, 4899, 1170—1172.
- Bloch D. P. J. Cell. a. Comp. Physiol., 1963, 62, 2, 87—94.
- Beadle G. W. Chem. Rev., 1945, 37, 15—96.
- Caspersson T. Naturwissenschaften, 1941, 29, 3—33.
- Danielli J. The theory of cells in relation to the study of cytoplasmic inheritance in amoeba by nuclear transfer. В кн.: Harvey Lect. Ser. 58, N. Y. London. Acad. Press, 1963, 217—231.
- Darlington C. D., La Cour L. J. Genetics., 1940, 40, 185—213.
- Darlington C. D., La Cour L. F. The handling of chromosomes. London, 1962.
- Duprat A. M., Jaylet A., Beetschen J. Compt. rend. Acad. Sci., 1964, 258, 3, 1059—1062.
- Edwards R. Nature, 1954, 174, 276—277.
- Errera M. Rev. ferment. et inds aliment., 1963, 18, 3, 85—92.
- Ficq A., Pavan C. United nations internat. conf. on the peaceful uses of atomic energy, 1958, 25, 211—212.
- Ficq A., Pavan C. Semaine hôpitaux. Path. et biol., 1961, 9, 7—8, 756—757.
- Gall J. G. Brookhaven Symp. Biol., 1956, 8, 17—32.
- Gay H. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1956, 2, 4, 2, 407—414.
- Giménez-Martin G., López-Sáez T. F., González-Fernández A. Experientia, 1963, 19, 10, 525—526.
- Giannelli F. Lancet, 1963, 1, 7286, 863—865.
- Goldfischer S. J. Neuropathol. exp. Neurol., 1964, 23, 1, 36—45.
- Grumbach M. M., Morishima A., Taylor J. H. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1963, 49, 5, 581—589.
- Hämmerling J. Annual Revs., Inc., 1963, 65—92.
- Heitz E. Planta, 1931, 12, 3, 495—505.
- Hsu T. S. Exptl. Cell Res., 1962, 27, 2, 332—334.
- Iasuzumi G. Experientia, 1957, 13, 8, 313—314.
- Ingram V. M. Nature, 1957, 180, 326—328.
- Izawa M., Allfrey V. G., Mirsky A. E. Nat. Acad. Sci. USA, 1963, 49, 4, 544—551.
- Kaufman B. P., McDonald M. Organisation of the chromosome. В кн.: Cold. Spring Harbor sympos. quantit. biol. N. Y., 1956, 21, 233—246.
- Kornberg A. Science, 1960, 131, 1503—1508.
- Latil P. Sci. et vie, 1963, 554, 97—101.

- Lima de Faria A. *Science*, 1959a, 130, 3374, 503—504.
- Lima de Faria A. *J. Biophys., Biochem. Cytol.*, 1959b, 6, 3, 457—467.
- Lima de Faria A. *Chromosoma*, 1962, 13, 1, 47—59.
- Lima de Faria A., Reitalu J., Bergman S. *Hereditas*, 1961, 47, 3—4, 695—704.
- Mittwoch U. *Scient. Am.*, 1963, 209, 1, 51—62.
- Mirsky A., Ris H. *J. gen. Physiol.*, 1947, 31, 1, 7—18.
- Mirsky A. E., Ris H. *J. gen. Physiol.*, 1951, 34, 5, 475—492.
- Meselson M., Stahl F. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1958, 44, 671—682.
- Moses M. J. *J. Biophys., Biochem. Cytol.*, 1956, 2, 215—218.
- Nebel B. R. *Radiation Res.*, 1959, 1, 431—452.
- Pappas G. D. *J. Biophys., Biochem. Cytol.*, 1956, 2, 2, 221—222.
- Pease D. C., Baker R. E. *Science*, 1949, 109, 2819, 8—10.
- Pelling G. *Nature*, 1959, 184, 9, 4686, 655—656.
- Porter K. K. *Fine structure of cells.*, 1955, 9, 236—250.
- Prescott D. M., Bender M. A. *Exptl. Cell Res.*, 1963, 29, 3, 430—442.
- Ris H., Mirsky A. E. *Exptl. Cell Res.*, 1951, 2, 263.
- Ris H. *Chem. Gen. Berlin—Göttingen*, 1959, 1—30.
- Ris H. *Chromosome structure. В кн.: The Chemical basis of heredity. Baltimore*, 1957, 23—62.
- Roth L. E., Obetz S. W., Daniels E. W. *J. Biophys., Biochem. Cytol.*, 1960, 8, 1, 207—220.
- Sirlin J. G. *Exptl. Cell Res.*, 1960, 19, 1.
- Sirlin J., Schor N. A. *Exptl. Cell Res.*, 1962, 27, 2, 363—366.
- Sengün A. *Semaine hôpitaux. Path. et biol.*, 1961, 9, 7—8, 753—755.
- Swanson C. P. *Cytology and Cytogenetics. London*, 1960.
- Taylor J. H. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1960, 90, 2, 409—421.
- Taylor J. H. *J. Biophys., Biochem. Cytol.*, 1960, 7, 3, 456—464.
- Taylor J. *Am. Natural.*, 1957, 41, 859, 209—221.
- Tjio J., Levan A. *Hereditas*, 1956, 42, 1—2.
- Wolff S. J. *Cell. Comp. Physiol.*, 1961, 58, 3, 2, 151—162.
- Woods P. S. *Autoradiographic studies of ribonucleic acid metabolism with labelled cytidine. В кн.: Cell Nucleus. London—Toronto—Durban, Butterworths Scient. Publs.*, 1960, 136—137.

XI

РЕПРОДУКЦИЯ КЛЕТОК

У одних клеток жизненный цикл ограничен двумя последовательными делениями, у других он начинается делением, а затем клетка стареет и умирает. Жизненный цикл клетки освещается в главе XVI. В данной главе, посвященной репродукции клеток, мы рассмотрим клетки первого типа, способные к размножению, обеспечивающему в организме постоянное обновление клеток и увеличение их числа. Основная форма репродукции клеток — митотическое деление, или митоз (называемый также непрямым делением). Помимо митоза, репродукция клеток происходит путем эндомитоза, политении, мейоза и амитоза.

Митотическое деление, или митоз

С середины XIX века начали появляться отдельные наблюдения митотического деления, значение которых не было оценено даже самими исследователями. В 1874 г. И. Д. Чистяков описал ряд фаз митоза в спорах плаунов, неясно представляя себе их последовательность. Уже в сле-

дующем году Э. Страсбургер описал митоз у ряда растительных и животных объектов, утверждая общие закономерности непрямого деления у различных организмов. И в последующие годы усилия многих ученых были направлены на изучение митоза. В 1879 г. были проведены подробные исследования В. Шлейхера, П. И. Перемежко и В. Флемминга. Описание общего хода процесса деления клетки, данное Флеммингом, лежит в основе современных представлений о митозе; им же была предложена и основная терминология, связанная с этим процессом (З. С. Кацнельсон, 1963, 1965).

Описанию митоза посвящена колоссальная литература (см. сводки работ — Д. Мэзия, 1963; И. А. Алов, 1964; Р. Г. Цанев и Г. Г. Марков, 1964). Проблемой митоза занимаются медики и биологи, работающие в самых разных областях науки. Поскольку митоз играет большую роль в злокачественном росте ткани, в репаративных процессах, — проблема репродукции клеток является одной из центральных не только в цитологии, но и в биологии и в медицине в целом.

Изучение митоза началось с классических цитологических исследований в световом микроскопе, а в последние десятилетия механизм его изучается на молекулярном уровне при помощи электронномикроскопических, биохимических, биофизических и цитохимических исследований.

Начиная описание митотического деления клетки, необходимо внести некоторые терминологические пояснения. Говоря о митотическом цикле, мы условимся понимать под этим термином совокупность процессов, в результате которых из одной старой клетки образуются две новые, т. е. это понятие объединяет как период деления (собственно митоз), когда происходит распределение наследственной субстанции и разделение цитоплазмы, так и часть периода между делениями — интерфазу, когда происходит подготовка к делению. Таким образом, митотический цикл ($S + G_2 + M$) является частью всего жизненного цикла клетки ($M + G_1 + S + G_2$).

Резкой грани между собственно митозом (M) и периодом между делениями — интерфазой ($G_1 + S + G_2$) — не существует. Во время интерфазы происходят основные процессы митотического цикла — репликация хромосом, и, таким образом, митоз по существу начинается именно в интерфазе.

Однако во всех руководствах и учебниках по цитологии принято резко разграничивать указанные периоды. Это объясняется двумя причинами. Во-первых, тем, что первоначально были описаны изменения, ведущие к распределению хромосом между дочерними клетками, и лишь значительно

позже стало известно о предшествующей этому процессу репликации хромосом (см. главу X). Во-вторых, тем, что обе части митотического цикла — подготовительные молекулярные изменения (репликация хромосом) и распределение хромосом (собственно митоз) — выявляются совершенно разными методами: первая — сложными цитохимическими методами (авторадиография, цитофотометрия), вторая — обычным микроскопированием. Период между делениями —

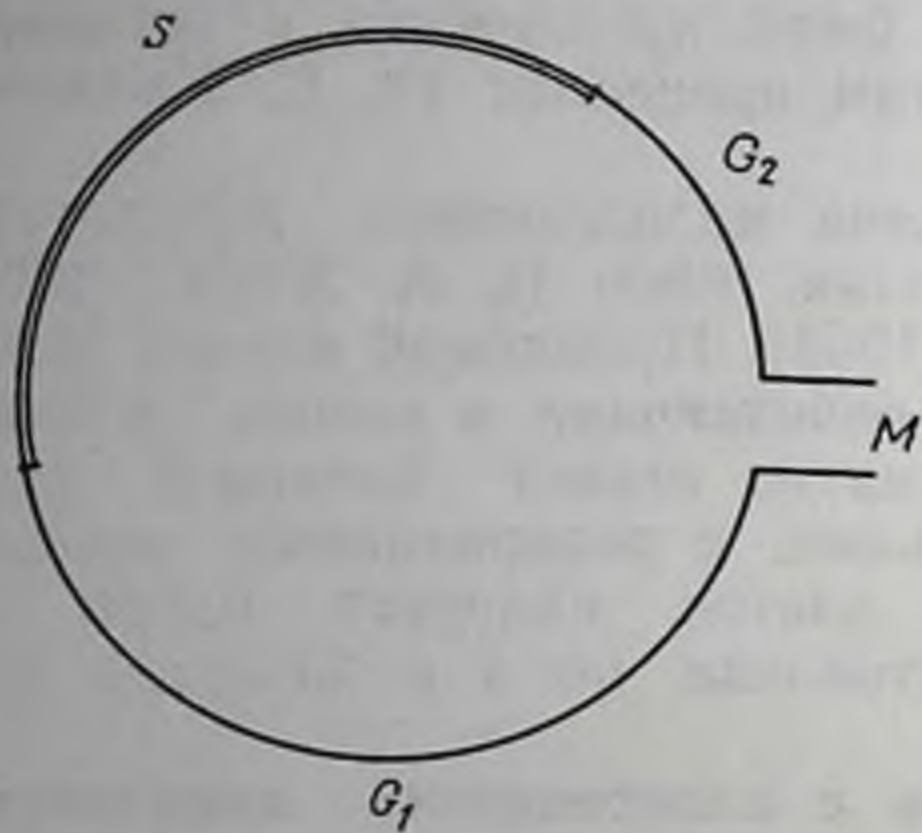


Рис. 90. Схема митотического цикла клетки.

G_1 — пресинтетический период; S — синтетический период; G_2 — постсинтетический период, или премитотический; M — период митоза (состоит из профазы, метафазы, анафазы и телофазы).

интерфаза — не однозначен по своему функциональному значению. Ранняя интерфаза (сразу по окончании предыдущего деления) характеризуется морфологическим и функциональным дифференцированием клетки. В это время в клетке синтезируются специфические белки, необходимые для выполнения свойств данной клетке функций, и, возможно, происходят некоторые подготовительные к синтезу ДНК процессы (рис. 90, период G_1). Затем в интерфазе начинаются биохимические процессы, с которыми непосредственно связано деление (рис. 90, периоды S и G_2), — синтез основных макромолекулярных соединений и синтез соединений, богатых энергией, реализуемой во время митоза.

Эту часть интерфазы, в которой начинаются подготовительные к митозу процессы, целесообразно называть препрофазой ($S + G_2$).

Следует иметь в виду, что в ряде случаев жизненный цикл клетки и ее митотический цикл совпадают. Так, в некоторых быстро делящихся клетках (например, яйцеклетки кольчатых червей, низших ракообразных, морского ежа) синтез ДНК происходит даже еще в телофазе предыдущего деления, а период G_1 полностью выпадает.

На основании многих исследований обычно считают, что дифференцирование клетки, выполнение ею специфических функций несовместимы с периодом деления и осуществляются только в интерфазе; в течение же самого митоза в клетке не происходят синтетических процессов. Однако авторадиографические исследования (Prescott, Bender,

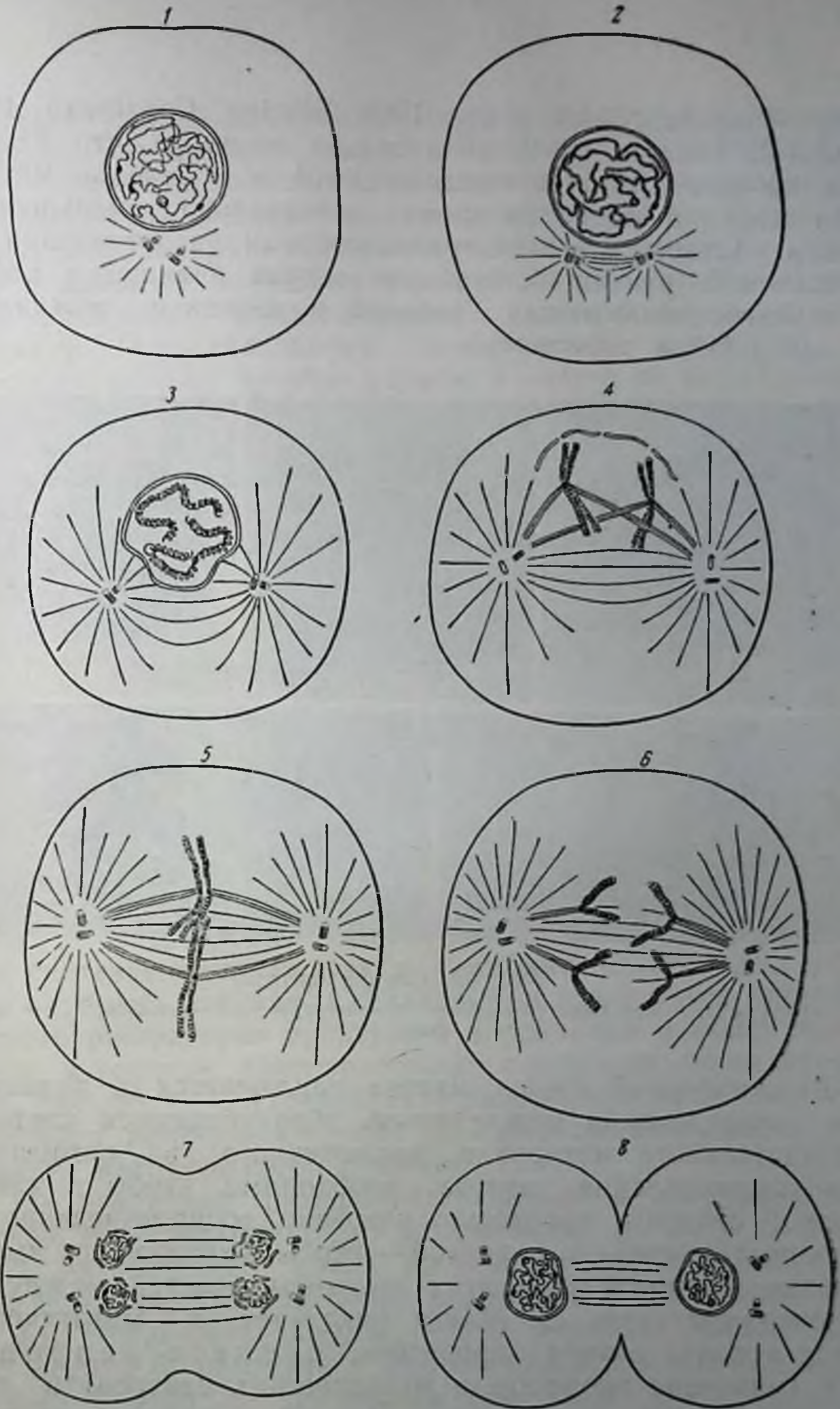


Рис. 91. Схема последовательных стадий митоза (по Мэзия, 1962).

1 — период между двумя делениями — интерфаза: хромосомы имеют вид длинных тонких нитей; каждая из двух родительских центриолей находится в паре с маленькой дочерней центриолью; 2 — в какой-то момент между двумя делениями хромосомы удваиваются, центриоли начинают расходиться и начинается образование веретена; 3—4 — профаза: хромосомы свертываются в спираль и сильно уплотняются; ядерная оболочка и ядрышко распадаются, а центриоли расходятся и образуют полюсы, к которым будут перемещаться хромосомы, в это время образуются связи между центромерами и полюсами; 5 — метафаза: хромосомы располагаются по экватору; 6 — анафаза: после расщепления сестринские хромосомы направляются к полюсам; 7—8 — телофаза: хромосомы раскручиваются, образуются ядерные оболочки и ядрышки дочерних клеток. Каждая центриоль дает новую центриоль. После окончания деления обе клетки вступают в интерфазу (1).

1962; Linnartz-Niklas и др., 1964; Bibring, Cousineau, 1964; Stafford, Iverson, 1964) убедительно показали, что некоторые процессы синтеза продолжают и в течение митоза, хотя масштаб их в это время значительно уменьшается. Таким образом, ставшие традиционными представления об абсолютной функциональной инертности делящейся клетки и «антагонизме» между работой и делением нуждаются в дальнейшем пересмотре.

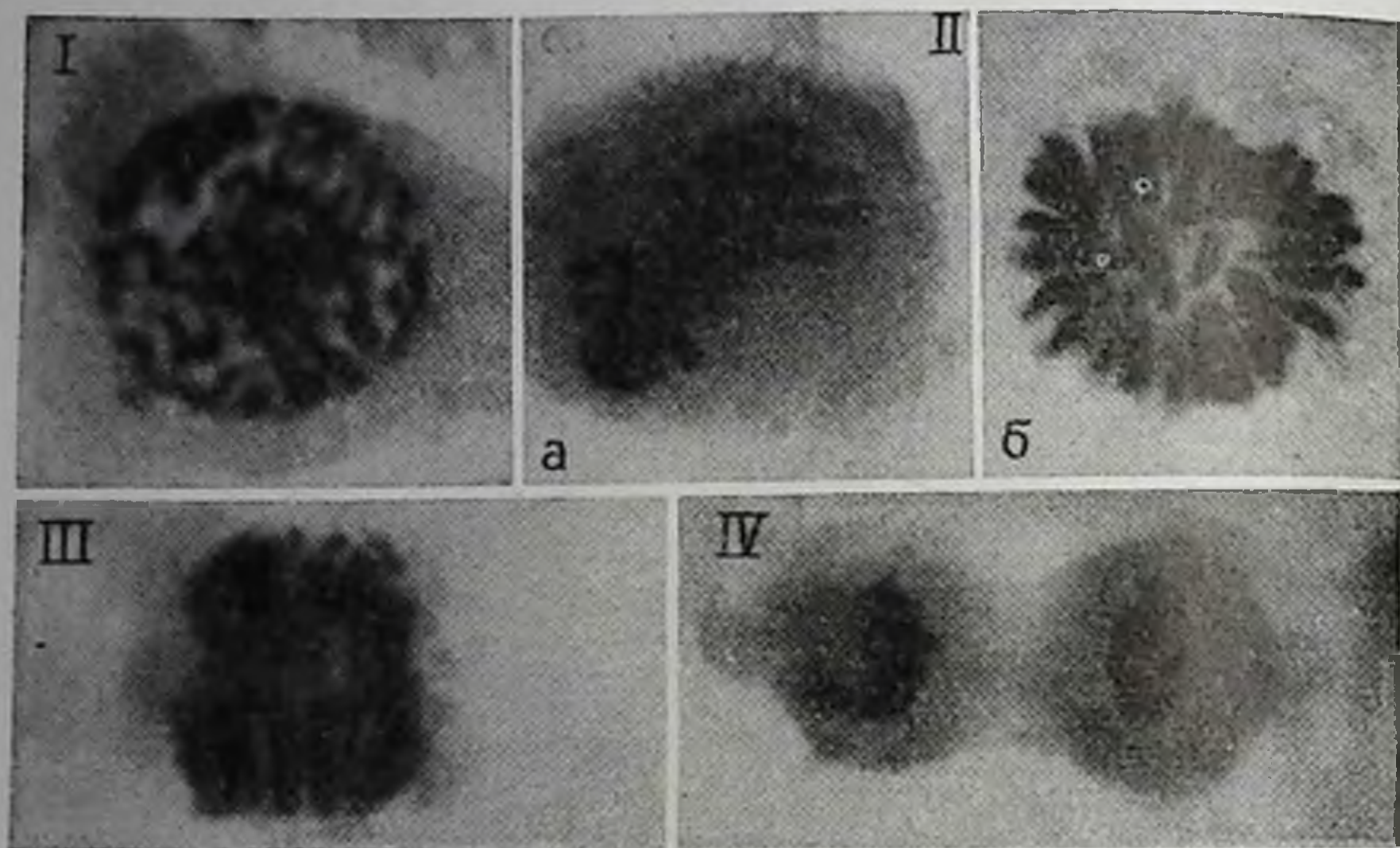


Рис. 92. Стадии митоза.

I — профаза; II — метафаза (а — сбоку, б — сверху); III — анафаза; IV — телофаза.

Биологический смысл митоза заключается в равномерном распределении между вновь образующимися клетками наследственного материала, заключенного в хромосомах. Для осуществления митоза необходимо, чтобы в клетке, с одной стороны, произошло удвоение, воспроизведение ее составных частей, а с другой — чтобы произошло именно деление, распределение этих составных частей между дочерними клетками. Д. Мэзия различает в митотическом цикле эти два класса процессов: процесс репродукции (удвоение хромосом и митотических центров) и процесс распределения. Первый процесс является предпосылкой для осуществления второго — самого деления.

Во время митоза в клетке происходит сложная структурная реорганизация, выражаемая в движениях и перемещениях клеточных компонентов, которая обеспечивает равномерное распределение удвоенного в период подготов-

ки генетического материала. Необходимо, чтобы он был сосредоточен в определенном количестве структурных единиц — хромосом, способных к делению и к передвижению, а также чтобы в клетке имелся специальный аппарат — митотический аппарат, обеспечивающий передвижение хромосом к полюсам делящейся клетки. Митоз характеризуется специфическими закономерными изменениями клеточных структур. Представителями классической цитологии все пространственные преобразования в клетке во время митоза были подразделены на 4 фазы: профазы, метафазы, анафазы и телофазы (рис. 91, 92), которые морфологически хорошо различимы и закономерно последовательны.

Этим фазам митоза предшествует период подготовки — часть интерфазы, которую мы условились выше обозначить препрофазой.

ПРЕПРОФАЗА

Подготовка клеточного деления в течение препрофазы сводится, как мы уже говорили, в основном к двум биохимическим процессам: к воспроизведению, синтезу основных макромолекулярных соединений (ДНК, РНК, гистонов, белков митотического аппарата и некоторых других белков) и к синтезу богатых энергией соединений. Энергетические потребности митотического цикла определяются как синтезом веществ, так и движениями клеточных структур во время деления. Создание или накопление «энергетического резервуара» происходит в основном в конце препрофазы, в периоде, непосредственно предшествующем профазе (см. рис. 90, G₂). Установление химической природы энергетического резервуара — одна из проблем, связанных с изучением митотического деления.

На основании цитофотометрических и автордиографических исследований было установлено, когда, в какой период митотического цикла происходит синтез ДНК, удвоение ее количества (описание репродукции ДНК дано в главе X). Продолжительность этого периода, обозначаемого как период S, различна у разных видов и в разных клетках одного и того же организма (см. табл. 22).

ДНК, как мы уже говорили, находится в ядре в виде нуклеопротеидного комплекса, белковая часть которого представлена гистонами. Соотношение ДНК и гистонов всегда постоянно, причем синтез гистонов и ДНК происходит синхронно. Характер построения из молекул ДНК хромосом и структура интерфазного ядра освещены в соответствующих главах (см. главы IX и X). Итак, основные про-

цессы митотического цикла — репродукция хромосом и обеспечение наполнения энергетического резервуара — совершаются в препрофазе.

Как правило, в обычном световом микроскопе отдельные хромосомы в интерфазном ядре неразличимы. После периода S в клетке имеется уже двойной набор хромосом. Для того чтобы получилось 2 клетки с равноценными генетическими наборами, необходимо, чтобы сестринские хромосомы равномерно распределились между образующимися клетками, т. е. чтобы они еще до деления клетки разошлись к противоположным ее полюсам. Структурой, ответственной за расхождение хромосом и определяющей полюса митоза, является клеточный, или митотический, центр (подробное описание его дано в главе VII). Мы уже указывали, что он относится к постоянным компонентам клетки, т. е. является органоидом, и представлен обычно парой центриолей, расположенных под прямым углом друг к другу. Клетка наследует одну из них и затем воспроизводит другую. Mazia, Naggs, Vibring (1960) показали, что создание новых центриолей происходит до данного деления — в течение телофазы предшествующего деления или в ранней интерфазе. Вслед за размножением центриоли — отпочковывания дочерней частицы от матушкиной — они расходятся. Расхождение центриолей создает в клетке поляризацию, необходимую для точного распределения хромосом. Подготовка к митозу связана также и с синтезом веществ, идущих на построение веретена деления клетки, морфологическое оформление которого происходит уже на более поздних стадиях деления.

Разбирая препрофазу, мы должны остановиться и на другом периоде интерфазы — гетеросинтетической интерфазе, или периоде G_1 . Этот период характеризуется функциональной активностью клетки, а также подготовкой к периоду синтеза ДНК (к S -периоду), поэтому его называют и пресинтетическим периодом. Период G_1 самый чувствительный к изменениям условий среды и физиологического состояния клеточной популяции. Оказалось, что различная продолжительность жизненного цикла обусловлена преимущественно варьированием времени протекания именно периода G_1 (Sisken, Kinoshita, 1961). Независимо от общей продолжительности всего жизненного цикла время протекания периодов S , G_2 и самого митоза — M более или менее постоянно. Такая изменчивость и зависимость периода G_1 от условий связана, вероятно, с тем, что этот период подготовки к синтезу ДНК требует особенно четкого функционирования и координирования различных энзимных систем. Для синтеза ДНК необходимы: трифосфаты четырех нуклеозидов, входя-

щих в молекулу ДНК, наличие фермента полимеразы, осуществляющего полимеризацию нуклеозидтрифосфатов (ДНК-нуклеотидилтрансфераза) в присутствии ионов магния, и ДНК-затравка. Лишь при соблюдении этих условий возможно начало синтеза ДНК — начало периода S. Новообразующаяся ДНК по свойствам и структуре соответствует ДНК-затравке, поэтому процесс удвоения ДНК называют редупликацией.

Таким образом, рассмотрев интерфазу, мы видим, что в этот период происходит подготовка к делению и уже в препрофазе осуществляется один из основных процессов деления — репликация хромосом (ДНК). В клетке в указанное время осуществляется коренная перестройка всей структуры, предшествующая перемещению хромосом, связи их с полюсами. Выяснилось это лишь в последнее десятилетие. Раньше же считали, что сущность клеточного деления заключается в самом делении клетки. На этом основании клетку в периоде интерфазы называли «покоящейся», а проблему стимуляции вступления клетки в деление сводили к проблеме перехода от интерфазы в митоз. Теперь же совершенно очевидно, что вступление клетки в митотический цикл (в препрофазу) и переход от препрофазы в собственно митоз — разные процессы. Поэтому следует различать пусковые, или триггерные, механизмы самого митоза (переход от препрофазы к делению) от механизмов вступления клетки в митотический цикл, на которых мы остановимся дальше.

ПЕРИОДЫ МИТОЗА

Переходя к рассмотрению собственно митоза, мы выделим в нем несколько периодов. С функциональной точки зрения можно различать три периода этого процесса (Р. Г. Цанев и Г. Г. Марков, 1964). 1. Период реорганизации, относящийся к профазе митоза, когда, с одной стороны, происходят созидательные процессы оформления хромосом и митотического аппарата за счет синтезированного в препрофазе клеточного материала, с другой — разрушаются некоторые структуры, свойственные интерфазной клетке. 2. Период деления и движений хромосом, охватывающий метафазу и анафазу. 3. Период реконструкции в телофазе, когда исчезают присущие лишь делящейся клетке структуры и восстанавливается строение, типичное для неделящейся клетки. В этом же периоде происходит и деление цитоплазмы (цитотомия, или цитокинез).

Профаза — период реорганизации. В главе X подробно изложены современные представления о строении хромосом

и об их редупликации. Здесь мы лишь повторим, что в пре-профазе клетки хромосомные нити находятся в вытянутом состоянии. С начала профазы начинается процесс конденсации хромосом в результате спирализации составляющих их нитей — длина хромосом при этом укорачивается до $1/25$ исходной длины. Превращение хромосом в компактные структуры обеспечивает осуществление их митотических движений. Следует напомнить, что в профазе находятся уже редуплицированные хромосомы. Удвоение количества их вещества произошло еще в препрофазе — в период S интерфазы, т. е. хромосомы на этой стадии состоят уже из двух сестринских половинок хромосом, которые в анафазе митоза будут расходиться к полюсам.

Характерным для профазы является разрушение ядрышка (описано сохранение ядрышка лишь в клетках некоторых злаков). Имеются разные предположения о значении разрушения ядрышка: перемещение вещества ядрышка к хромосомам и переход вместе с ними в дочерние ядра, участие в образовании веретена, взаимный обмен рибонуклеопротеидами с цитоплазмой. Очень интересны опыты с поражением ядрышка в нейробластах кузнечика микроручками ультрафиолетовых лучей. Они показали, что облучение ядрышка в период от поздней телофазы до средней профазы останавливает митоз. Облучение же остальной клетки, не затрагивающее ядрышка, ведет лишь к задержке митоза. Может быть, ядрышко играет главную роль в процессах синтеза и других подготовительных к митозу процессах, но деятельность его завершается в профазе.

Весьма характерным для митоза является наличие так называемого хромосомного цикла РНК — накопление РНК в хромосомах во время профазы и исчезновение ее в анафазе-телофазе. Имеются предположения о связи этого явления со спирализацией хромосом, распадом и восстановлением ядрышка и с митотическими движениями.

Для конца профазы характерно разрушение ядерной оболочки, однако, как и в случае исчезновения ядрышка, бывают исключения — у простейших на всем протяжении митоза ядерная оболочка сохраняется. Изучение ультраструктуры делящейся клетки показало, что в конце профазы ядерная оболочка полностью не растворяется. При исследовании клеток корешков лука (Porter, Machado, 1960), яиц морского ежа (Harris, 1961), сперматоцитов саранчи, улитки и кузнечика (Bager, Joseph, Meek, 1961), амёб (Roth, Daniels, 1962), клеток HeLa в культуре ткани (Robbins, Gonatas, 1964) было обнаружено, что ядерная оболочка растворяется лишь в отдельных местах, распадаясь на фрагменты. Во время митоза фрагменты ядерной мембраны не исчезают, а превра-

щаются в мембраны эндоплазматической сети. В конце митоза из мембран эндоплазматической сети, окружающей хромосомы, образуется оболочка дочерних ядер.

В отношении химизма растворения и фрагментации ядерной оболочки допускается возможность участия в этом процессе митохондрий. Морфологически это подтверждается движением митохондрий по направлению к тем участкам ядерной оболочки, где начинается ее растворение.

Митотический аппарат. Для осуществления деления необходимо наличие ахроматинового, или митотического, аппарата, белки которого синтезируются в интерфазе, а в профазе осуществляется их структурная реорганизация — «сборка». Полное же оформление митотического аппарата происходит в метафазе (см. рис. 91).

В понятие «митотический аппарат» обычно входят центриоли, лучистые цитоплазматические структуры — звезды (астральная лучистость) и нити веретена. Основная масса митотического аппарата представлена звездами и веретеном. Митотическое веретено состоит из двух типов нитей: центральных, связывающих оба полюса, и хромосомных, связывающих полюсы с центромерами, или кинетохорами, хромосомом.

Имеются различные точки зрения на структуру промежуточного вещества митотического аппарата. Одни считают, что промежуточное вещество представлено цитоплазмой, неотличимой от цитоплазмы, окружающей область веретена, другие находят, что оно имеет специфическую структуру. Д. Мэзия полагает, что истина находится где-то посередине. Область митотического аппарата лишена митохондрий, часто без эргастоплазматических структур. Здесь мы рассмотрим нормальный, биполярный митоз, когда ось, соединяющая сестринские центры, представлена прямой. Однако наблюдаются случаи многополюсных митозов: трех-, четырех-, пятиполюсных; при этом полюса располагаются геометрически правильно. Такие случаи мультиполярности могут возникнуть при наличии нескольких ядер в клетке, в яйцеклетках при полиспермии, а также при нарушениях делений самих митотических центров.

Для выяснения химического состава и структуры митотического аппарата большое значение имели работы Д. Мэзия с выделенным аппаратом. Было показано, что аппарат в яйцах морских ежей содержит около 12% белков клетки. Из общей массы изолированного аппарата белки составляют 90%, РНК — около 6%. В аппарате обнаружены полисахариды и некоторое количество липидов. Отмечено также сходство в аминокислотном составе белков ахроматинового аппарата, актомиозина и жгутиков у простейших, что, быть мо-

жет, связано с их сократительной функцией, но, возможно, лишь указывает на некоторые общие особенности в схеме строения волокнистых белковых структур. Белки митотического аппарата оказались богатыми сульфгидрильными группами, которые, как мы увидим ниже, весьма существенны в межмолекулярных связях нитей веретена. В митотическом аппарате определено и наличие АТФ-азы.

Установлено, что ахроматиновый аппарат состоит из фибриллярных белков и находится в состоянии геля. Последнее наглядно подтверждается микрургическими исследованиями, позволяющими представить себе митотический аппарат в виде полутвердого тела (возможность «вытягивать» аппарат из клетки, деформировать его иглой, передвигать внутри клетки), и исследованиями методом центрифугирования. Старую дискуссию о реальности существования нитей митотического аппарата можно считать завершенной. Методами фазово-контрастной и поляризационной микроскопии ряд исследователей на разных объектах продемонстрировал эти структуры в живой клетке (Smidt, 1939; Hughes и Swann, 1948; Swann, 1951; Inué, 1953). Двойное лучепреломление митотического аппарата свидетельствует о правильной ориентировке его молекул. Электронномикроскопические исследования Hagven и Bernhard (1956) показали, что фибриллы веретена около 200 Å в диаметре попарно сближены и являются «трубчатыми», т. е. обнаруживают аналогию с ресничками и жгутиками (см. главу VII). Вокруг фибрилл сосредоточено менее определенно организованное волокнистое вещество. Roth и Daniels также отмечали «облако» беспорядочно расположенных мелких частиц величиной 2—6 мμ, представляющих собой, видимо, неориентированные белковые молекулы вокруг фибрилл, толщина которых равнялась ≈ 14 мμ. Фибриллярная структура веретена весьма лабильна и легко разрушается под действием различных веществ — колхицина, эфира, β-меркаптоэтанола и др. Л. Гейльбрун (1957) считал необходимым условием для образования веретена повышение вязкости цитоплазмы — переход цитоплазмы из золя в гель. Механизм такой митотической желатинизации не совсем еще расшифрован. Имеется много данных об участии в этом процессе ионов кальция. Исследованиями Капе и Hergsch (1959) было показано, что белок, осаждаемый в цитоплазме при воздействии ионов кальция, по своим свойствам сходен с белком митотического аппарата. Эксперименты по искусственному партеногенезу позволили предположить, что механизм действия агентов, вызывающих развитие, связан с мобилизацией ионов Ca^{++} и переходом их из кортикального слоя в эндоплазму. После желатинизации цитоплазмы осуществляется закономерная

ориентация волокнистых структур митотического аппарата. Возможно, что этот процесс связан с влиянием, исходящим от центриолей и кинетохоров, так как легче всего растворяются те участки фибрилл митотического аппарата, которые расположены дальше от этих образований.

Что касается источников образования митотического аппарата, то сейчас мы располагаем двумя группами данных, позволяющими решить этот вопрос. С одной стороны, имеются иммунохимические исследования (Went, 1959; Went, Mazia, 1961), согласно которым белки митотического аппарата яиц морского ежа предсуществуют в интерфазной клетке (гипотеза «предшественника»): все антигены, которые удалось выделить из митотического аппарата, реагировали с антитысывороткой, полученной против антигенов неоплодотворенного яйца. С другой стороны, ряд автордиографических исследований с мечеными аминокислотами свидетельствует, что часть белков митотического аппарата синтезируется уже во время самого деления (Stafford, Iverson, 1964; Gross, Cousineau, 1963; Linnartz-Niklas и др., 1964), причем вновь синтезируемый белок составляет около 2—8% белков этой структуры (Vibring, Cousineau, 1964). Таким образом, можно признать, что митотический аппарат имеет двойственную природу: он строится из белковых макромолекул, предсуществующих в интерфазной клетке, а частично за счет процессов синтеза во время самого митоза. Возникает вопрос о природе связей, обуславливающих правильную ориентацию волокнистой структуры митотического аппарата.

Многие авторы, начиная с исследований Rabkine (1931), нашли циклические изменения сульфгидрильных групп белков в течение митоза. Д. Мэзия сначала выдвинул гипотезу о переходе внутримолекулярных дисульфидных связей в межмолекулярные, обуславливающие ориентированную фибриллярную структуру митотического аппарата. Однако ряд фактов не укладывался в эти представления: увеличение количества-S-S-групп в веретене до метафазы и уменьшение их к ее концу, растворение митотического аппарата под влиянием ингибитора SH-групп, чувствительность аппарата к воздействиям, недостаточным для разрыва-S-S-связей. Позже Д. Мэзия изменил свою гипотезу, приняв, что макромолекулы веретена образуют линейные полимеры (субмикроскопические фибриллы) с помощью-S-S-связей, а объединение их в пучки (микроскопические нити веретена) осуществляется слабыми водородными связями. В образовании последних могут принимать участие SH-группы.

Метафаза и анафаза — период движений. Метафаза начинается так называемым метакинезом (длится несколько минут). Под метакинезом понимают движения хромосом из

их положений в конце профазы в положения, занимаемые ими в метафазе. Эти движения приводят к прикреплению кинетохоров хромосом к хромосомным нитям веретена, связанных с полюсами клетки. Взаимодействие хромосом и полюсов лежит и в основе более поздних движений хромосом, происходящих уже в анафазе. Во время метафазы структура митотического аппарата становится более высоко ориентированной. В ряде случаев метакинез начинается до распада ядерной оболочки. Д. Мэзия (1963) изучал траектории метакинеза и карты пути кинетохоров и плеч хромосом. В результате метакинеза хромосомы оказываются расположенными перпендикулярно к нитям веретена на одинаковом расстоянии от обоих полюсов — в экваториальной плоскости. Поэтому стадию метафазы часто называют стадией экваториальной пластинки. Следовательно, для метафазы характерно расположение кинетохоров в одной плоскости — точно посередине между полюсами.

Метафаза характеризуется разъединением дочерних хроматид друг от друга, и затем уже происходит переход к анафазе — расхождение дочерних хроматид к противоположным полюсам клетки. Внешне разъединение хромосом и их расхождение напоминают отталкивание сестринских хромосом. Накоплен обширный материал об изменениях размера митотического аппарата, о типах движения хромосом в различных клетках и о скорости этого движения, которое колеблется от 0,2 до 5 μ /мин. В большинстве случаев анафазное движение хромосом происходит синхронно, «отстающие» хромосомы наблюдаются лишь при нарушении митоза. Движение хромосом в анафазе происходит при взаимодействии двух одновременно протекающих процессов: с одной стороны, сокращения хромосомных нитей, связывающих хромосомы с полюсами, а с другой — удлинения центральных нитей веретена, связывающих оба полюса; при этом между ними увеличивается «межзональная область».

Были выдвинуты совершенно различные предположения о механизме движения хромосом (электрические и магнитные силы, токи цитоплазмы, изменения в коллоидных системах, сократительные механизмы и др.). Проводили аналогии между митотическим аппаратом и мышцей. При этом пытались выяснить, не состоит ли предполагаемая система митотического аппарата из таких же видов молекул, как и мышечные клетки того же организма. Однако иммунологические исследования показали, что белки митотического аппарата не реагируют с антителами к мышечным белкам того же вида организма. В этом отношении получены положительные данные при исследовании сократительных элементов митотического аппарата из яиц морского ежа и

сократительных элементов жгутиков и спермиев одного и того же вида (Ruby, 1961).

Белки изолированного митотического аппарата обнаруживают мало сходства с актомиозином, хотя по аминокислотному составу белков митотический аппарат сходен с актином и содержит фермент, расщепляющий АТФ. Обнаружение АТФ-азы согласуется с гипотезой, согласно которой биологические системы, осуществляющие движение, обладают этой ферментативной активностью. Эту гипотезу также подтверждают данные, согласно которым снижение содержания АТФ в цитоплазме больше чем на 50% (ингибирование ее окисью углерода) полностью останавливает митоз яиц морского ежа (Ereel, 1963).

Таким образом, мы видим, что механизмы расхождения хромосом пока не выяснены; каждое из выдвигаемых предположений, носящее характер гипотезы, имеет сильные и слабые стороны.

Телофаза — период реконструкции. Цитотомия. Начало телофазы застают хромосомы уже у полюсов; в телофазе движение хромосом заканчивается. В клетке с поляризованными группами хромосом начинаются структурные преобразования.

В телофазе происходят деспирализация и удлинение хромосом, возвращение их к состоянию, характерному для интерфазы. В этот же период деления появляются и ядрышки, причем в тех же местах, где они были в материнской клетке. Возможно, часть вещества ядрышка заново синтезируется в телофазе, а часть за счет распавшихся старых ядрышек, материал которых был сосредоточен на хромосомах. В межзональной области отмечается увеличение количества белков, содержащих SH-группы. Для этой области характерно накопление РНК, ранее связанной с циклом хромосомной РНК. Поскольку накопление РНК в межзональной области совпадает с видимой утратой хромосомами РНК, высказывались предположения о связи этих явлений, которые, однако, оспариваются рядом исследователей. Увеличение содержания РНК в межзональной области можно объяснить на основании электронномикроскопических исследований Porter и Machado (1960), наблюдавших скопление элементов эндоплазматической сети, в том числе фрагментов ядерной оболочки, у полюсов — от конца профазы до начала анафазы. Во время анафазы в веретено проникает все больше этого материала, видимо, от полюсов. Вероятно, и часть вещества самого веретена отделяется от полюсов и стягивается к экватору. Таким образом, цитохимическое обнаружение РНК в межзональной области, может быть, именно этим и обусловлено.

В телофазе происходит разрушение конусов веретена. Экваториальный же участок веретена в межзональной области еще больше уплотняется. Нити веретена утолщаются, а между ними выявляются электронно плотные гранулы. По мере образования борозды деления этот участок плотно окружается плазматической оболочкой и превращается в «промежуточное тельце» (Buck, Tisdale, 1962), которое либо вскоре полностью разрушается, либо длительно сохраняется между дочерними клетками. Наряду с реконструкцией дочерних ядер и разрушением митотического аппарата в телофазе происходит процесс деления клеточного тела — цитотомия, или цитокинез. Растительные клетки отделяются друг от друга путем образования между ними клеточной перегородки. В животных клетках цитотомия осуществляется путем образования перетяжки — борозды деления.

Электронномикроскопические исследования эритробластов крысы и клеток опухолей показали, что цитотомия не ограничивается только образованием борозды, но одновременно вокруг «промежуточного тельца» из эндоплазматической сети возникают мелкие пузырьки. Сливаясь вместе, они образуют на границе будущих дочерних клеток каналец, стенки которого после слияния с бороздой деления преобразуются в плазматическую мембрану дочерних клеток (Buck, Tisdale, 1962). Пока трудно судить, распространяется ли такой способ цитотомии и на другие клетки. В клетках HeLa в культуре ткани и при делении амебы образования пузырьков не наблюдали, и цитотомия осуществлялась лишь путем перетяжки (Roth, Daniels, 1962; Robbins, Gonatas, 1964).

Механизм цитотомии окончательно не выяснен. Выдвигаются предположения о значительной роли в нем кортикального слоя цитоплазмы. Плоскость цитокинеза расположена перпендикулярно продольной оси веретена и проходит через ее среднюю точку, т. е. совпадает с экваториальной плоскостью клетки. На сперматоцитах жука *Papilius disjunctus* было показано (Roberts, Johnson, 1956), что в многополюсных митозах плоскость деления определяется не экваторами веретен, а их полюсами — борозды дробления возникают посередине между полюсами независимо от того, соединена или не соединена данная пара полюсов веретеном. Допускают также переход каких-то активных веществ из области митотического центра к кортикальному слою; может быть, происходит и передвижение веществ их хромосом. Известно лишь, что перед делением под влиянием астральной лучистости в структуре клеточной оболочки между полюсами и экватором происходит определенное дифференцирование, создающее градиенты рН, Ca^{++} , АТФ, белков и липидов.

Почти все работы по изучению механизма цитокинеза были выполнены на дробящихся яйцах, преимущественно иглокожих. Остается неясным, насколько составленные на основе их представления о цитокинезе универсальны. Так, эксперименты Kawahiga (1960) на нейробластах кузнечика показали зависимость локализации борозды деления от положения средней части тела веретена: искусственное смещение веретена вызывает образование борозды в другом месте, определяемом расположением средней части веретена, т. е. в данном случае в отличие от дробящихся яиц детерминирующее влияние образования борозды деления исходит из веретена, и любая часть поверхности клетки потенциально способна образовать борозду деления. Этим представлениям противоречат данные (1965), согласно которым разрушение или перемещение митотического аппарата в яйцах морского ежа не влияют на цитотомию.

МЕЙОЗ

Особой формой митоза является мейоз, характерный для развивающихся половых клеток, которым свойствен гаплоидный, или одинарный, набор хромосом. При мейозе проходят два последовательных деления, в результате которых из диплоидных ооцитов и сперматоцитов первого порядка возникают гаплоидные половые клетки: в первом мейотическом делении происходит конъюгация гомологичных хромосом, и к полюсам отходит по целой хромосоме от каждой гомологичной пары; при втором мейотическом делении к полюсам расходятся, как и при обычном митозе, хроматиды каждой хромосомы. При оплодотворении восстанавливается двойной набор.

ВРЕМЯ ПРОТЕКАНИЯ МИТОЗА И ИНТЕРФАЗЫ

Рассмотрев митоз и период между делениями, мы приводим таблицу соотношения времени протекания интерфазы и митоза. Из данных табл. 20 видно, что в клетках, растущих в период интерфазы, продолжительность этого периода велика; в нерастущих клетках (в клетках зародыша на ранних стадиях дробления) она очень незначительна, т. е. продолжительность интерфазы как-то связана с ростом клеток в промежутках между делениями.

Продолжительность отдельных стадий митоза колеблется в довольно широких пределах. Наиболее длительными стадиями митоза являются профазы (продолжительность от 2 до

Т а б л и ц а 20

Продолжительность интерфазы и митоза различных типов клеток
(из Д. Мэзния, 1963; сокращено)

Тип ткани	Продолжительность в минутах	
	митоз	интерфаза
Клетки корней гороха <i>Pisum sativum</i>	177	1 350
Клетки из селезенки мыши в культуре	43—90	480—1 080
Тощая кишка крысы <i>in situ</i>	28	2 000
Клетки из крысиной саркомы Иенсена <i>in situ</i>		
Яйцо <i>Drosophila</i>	27	720
Зародыш морского ежа <i>Psammechinus</i>	6,2	2,9
на стадии 2—4 клеток	28	14
Такой же зародыш на стадии 200—300 клеток	32	110

270 минут) и телофаза (от 1,5 до 140 минут), более короткими стадиями — метафаза (0,3—175 минут) и анафаза (0,3—122 минуты).

ПРИЧИНЫ И РЕГУЛЯТОРЫ МИТОЗА

Мы уже говорили, что причины вступления клетки в митотический цикл следует отличать от пусковых механизмов самого митоза — перехода от препрофазы к профазе. Этот переход — один из самых важных критических моментов в митотическом цикле клетки. Давно высказывались предположения о некоторых морфофизиологических механизмах, влияющих на деление клетки. Переход клетки к делению связывали с нарастанием клеточной массы до определенного критического размера, с нарушением соотношения между ядром и цитоплазмой, с изменением соотношения между поверхностью и объемом клетки. Считали, что все эти изменения приводят к существенным сдвигам в клетке, не совместимыми с ее функциональной активностью. Деление при этом рассматривалось как регуляторный механизм, в результате которого восстанавливаются прежние соотношения.

Проведенные за последнее десятилетие исследования показали, что хотя удаление части цитоплазмы клетки и замедляет наступление деления, но оно не связано непосредственно с удвоением клеточной массы и наступает, например у амебы, лишь через 4 часа после этого; при голодании деление происходит еще до достижения критической массы.

Д. Мэзия обнаружил (1956) наличие пункта необратимости, после которого удаление части цитоплазмы уже не предотвращает наступления митоза. Это заставило пересмотреть значение критической массы как пускового механизма митоза.

Что касается значения нарушения ядерно-плазменных отношений для начала митоза, роли увеличения объема ядра как импульса к структурным перестройкам цитоплазмы, то ряд данных показал, что вряд ли пусковые механизмы митоза исходят из ядра (например, деление безъядерных яиц морского ежа при искусственном партеногенезе).

Таким образом, приведенные морфологические механизмы если и имеют место, то их следует трактовать не как причину митоза, а скорее как результат вступления клетки в митотический цикл, как морфологическое отражение протекающих в клетке синтетических процессов.

Причины вступления клетки в деление пока не выяснены. Издавна выдвигались разные предположения о факторах, стимулирующих митоз. Так, Габерланд считал, что возникновение митозов связано с веществами, выделяемыми клеткой при ее повреждении. А. Г. Гурвич (1945) обнаружил (в 1923) эффект стимуляции процесса клеточного деления при действии определенной области ультрафиолетовых лучей — так называемый митогенетический эффект. Им же показана «премитотическая вспышка» — выделение клеткой ультрафиолетовых лучей, предшествующее ее делению.

По мере накопления новых данных все очевиднее становится, что причины вступления клетки в деление следует искать в обмене веществ самой клетки. В процессе жизнедеятельности клетки происходят такие сдвиги обмена, которые приводят ее к делению. На этот биохимический механизм и действуют различные факторы, изменяя интенсивность размножения клеток.

В механизмах пуска митоза большую роль играет синтез ДНК. Однако редупликация ДНК не является единственным пусковым механизмом для митоза, требуются еще какие-то дополнительные процессы в периоде G_2 , чтобы митоз начался. Известно, что иногда синтез ДНК может заканчиваться задолго до деления и не всегда редупликация ДНК — обязательная предпосылка деления ядра и клетки.

Вероятным поэтому является предположение, что переход к профазе митоза вызван нарушениями полиэлектролитного равновесия клетки в результате синтетических процессов в конце интерфазы — в препрофазе. Это может быть связано со структурными изменениями рибонуклеопротеидов. Характерно повышение активности ядерной РНК непосредственно перед делением. Д. Мэзия считает, что критическим момен-

том перехода от интерфазы к делению вполне может быть начало первичной «сборки» митотического аппарата. Plesner (1958) была выдвинута гипотеза о роли концентрации нуклеозидтрифосфатов как фактора, создающего благоприятные условия для разрыва связи белков с рибосомами. Освобождающийся при этом белок может играть роль в пусковом механизме митоза.

На биохимические механизмы старта митоза и на его подготовку, общие для всех типов клеток и тканей, накладываются надклеточные механизмы, регулирующие пролиферацию отдельных тканей, взаимоотношения между делением и дифференцировкой, равновесие между изнашиванием и восстановлением клеток в отдельных органах и тканях.

Деление клеток, как и другие микрофизиологические процессы в организме, регулируется различными факторами.

Реакция разных клеток на одни и те же регулирующие воздействия зависит от состояния клетки, ее дифференцировки, функциональной активности, возрастных особенностей; она связана и с режимом питания, содержанием витаминов. Помимо общих регуляционных механизмов, контроль митотической активности осуществляется и некоторыми местными факторами (например, продуктами распада ткани, рабочей активностью клетки). Взаимодействие различных регулирующих факторов обеспечивает как общие, так и местные изменения митотической активности.

Клеточное деление не остается одинаковым в течение суток. Обнаружена суточная периодичность митозов клеток различных органов. Интересно, что суточные ритмы митозов у дневных и ночных животных различны. У мышей и крыс максимум митотической активности отмечается в утренние часы, а минимум — в ночные; у дневных животных и человека наоборот: высокие показатели митотической активности в ночное время, а низкие — утром. Сопоставление суточных ритмов митотической активности показывает, что деление клеток в разных органах может изменяться в течение суток неодинаково. Колебания интенсивности митозов в различных органах несинхронны (рис. 93). В органах, функционально связанных, отмечается параллелизм суточных ритмов. При этом органы одной анатомической системы могут иметь разные митотические ритмы, если их функциональная активность изменяется неодновременно в течение суток. На этом основании И. А. Алов (1964) считает правильнее говорить не об «органных» ритмах митоза, а о ритмах, функционально связанных (одновременно функционирующих) систем органов. Различные авторы находили связь периодичности митозов то с фотопериодичностью, то с суточным колебанием тем-

пературы, то с двигательной активностью животных или ритмом работы различных клеток.

На основании анализа большого собственного фактического материала, своих сотрудников и других исследовате-

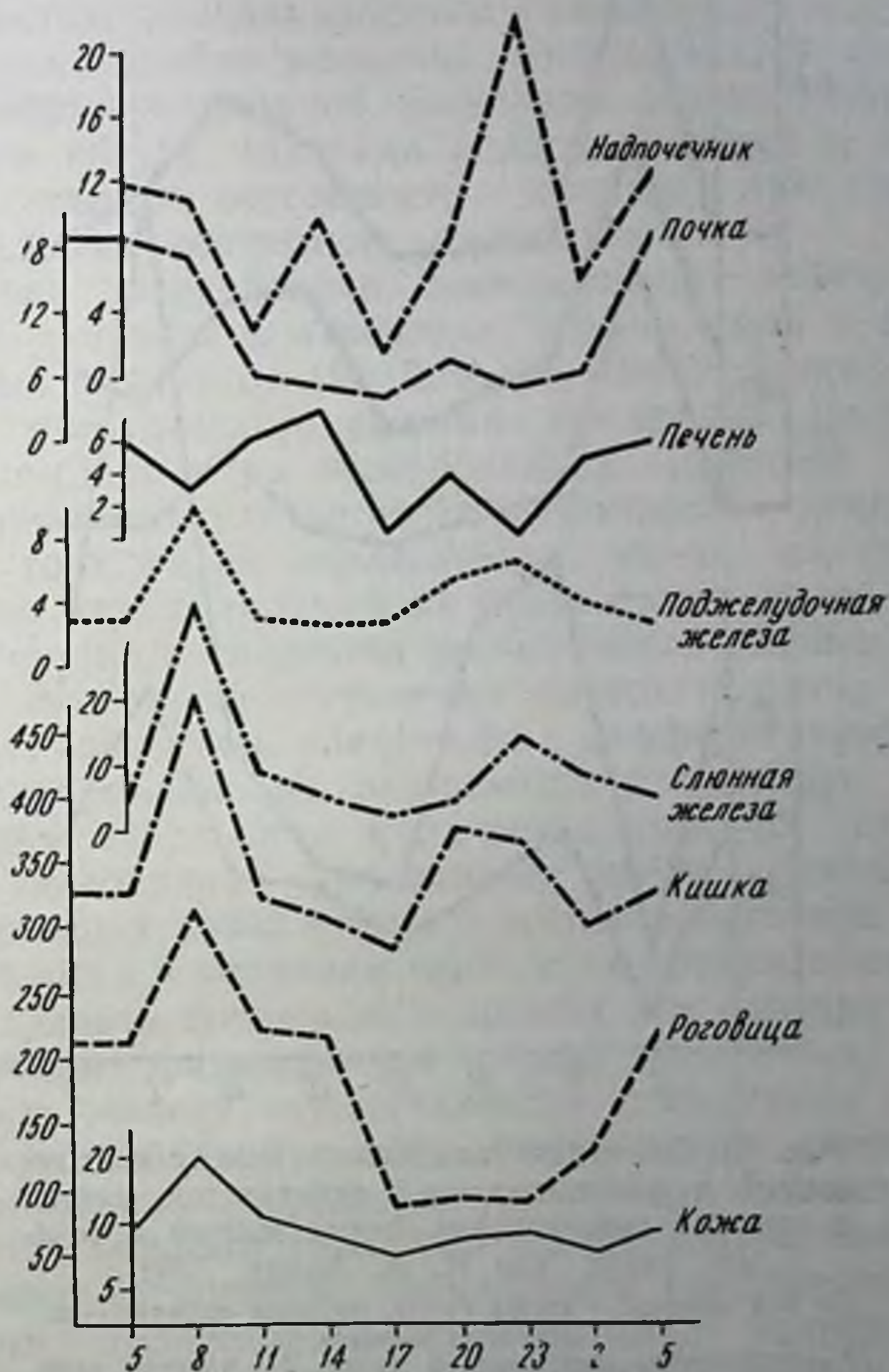


Рис. 93. Изменения митотической активности в течение суток в разных органах белых мышей (по И. А. Алову, 1964).

По оси абсцисс — время суток, по осям ординат — количество митозов.

лей И. А. Алов пришел к выводу, что суточная периодичность связана не с одним фактором, а является следствием цепной реакции, в которую включены и факторы внешней среды (освещенность, температура, режим питания и др.), и периодичность двигательной активности животных, и изменения обменных реакций, и ритм функциональной активно-

сти клеток. Суточные ритмы митозов отличаются определенной устойчивостью, которая обусловлена наследственной закрепленностью суточного ритма (Н. В. Красильникова,

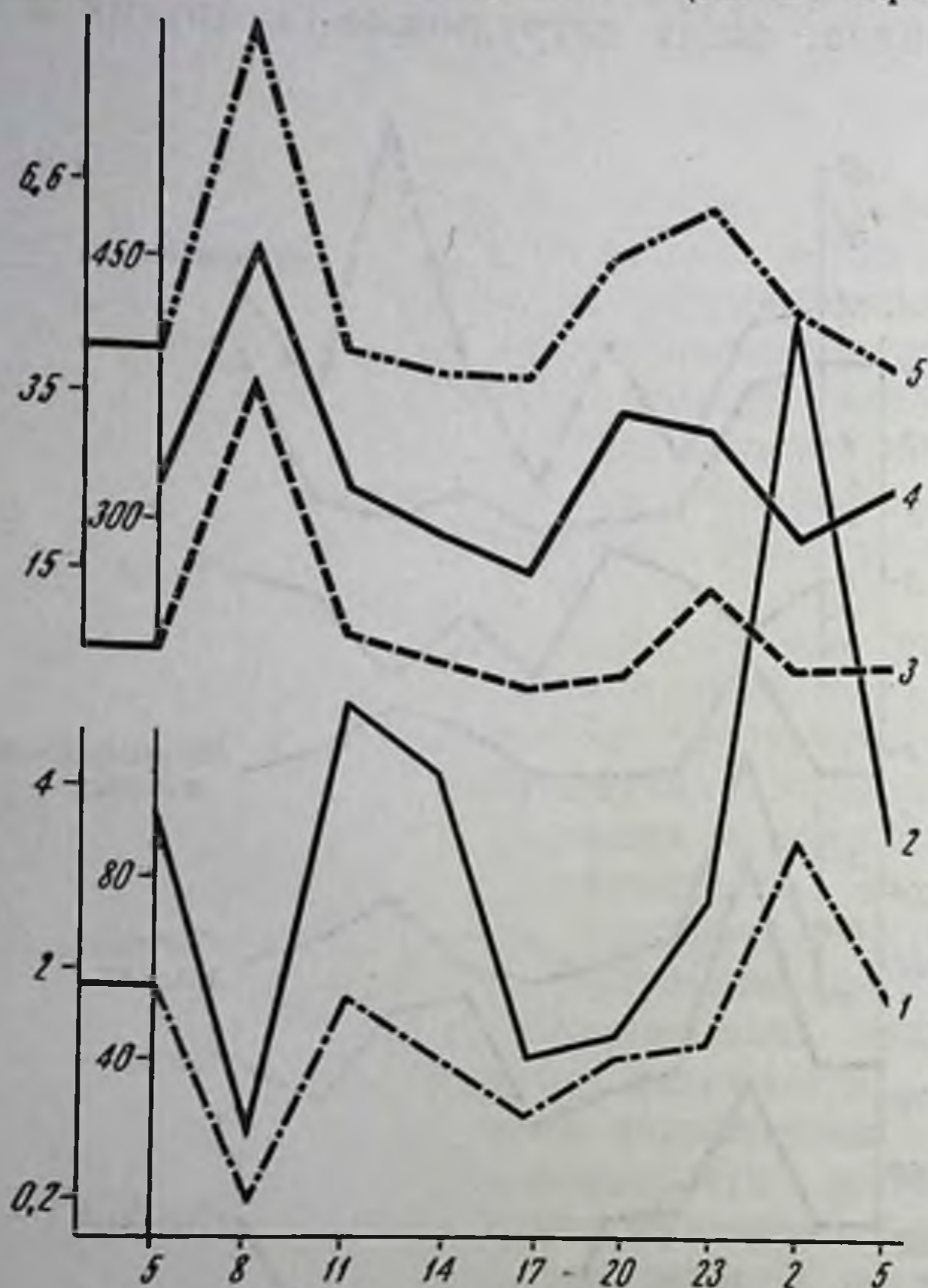


Рис. 94. Обратная зависимость между митотической и функциональной активностью клеток в органах пищеварения белых мышей в течение суток (по И. А. Алову, 1964).

По оси абсцисс — время суток, по осям ординат — количество митозов.

1 — количество поглощенной пищи; 2 — частота посещения кормушки; 3 — митотическая активность поджелудочной железы; 4 — митотическая активность кишечника; 5 — митотическая активность слюнной железы.

1963). Одним из основных факторов суточной периодичности митозов является ритм функциональной активности клеток (рис. 94).

Было показано, что интенсивность размножения клеток закономерно изменяется не только в течение суток, но и по сезонам года, а также в разные периоды жизненного цикла. Возможно, что затухание митотической активности в ходе

онтогенеза варьирует в различных органах у разных видов животных.

Различные факторы, изменяющие митотическую активность, действуют через биохимические процессы, приводящие клетку к делению.

При анализе закономерностей размножения клеток в целом организме особое внимание исследователей привлекают вопросы нейро-гуморальной регуляции деления, периодичности деления клеток, значения режима питания и процессов обмена, изучаются особенности деления при различных функциональных состояниях организма.

Проведены исследования, показывающие влияние на митотическую активность перерезки, повреждения и раздражения нервных аппаратов (И. А. Алов, 1964). Важная роль в регуляции митотического режима организма принадлежит системе гормонов. При исследованиях действия гормонов большое внимание уделяется специфичности действия того или иного гормона на определенную ткань, на дозировку, существенно отражающуюся на результатах опыта. Известна роль адреналина в снижении митотической активности, обусловленной задержкой вступления клеток в митоз. Кортизон стимулирует процессы клеточного дифференцирования, подавляя одновременно их способность к делению. Введение относительно небольшого количества гормона щитовидной железы — тиреоидина — увеличивает число делящихся клеток, а в больших дозах угнетает митоз. Изменения митотической активности в условиях гипо- и гипертиреоза позволяют рассматривать щитовидную железу как один из факторов, стимулирующих размножение клеток. Оказалось, что через щитовидную железу осуществляется стимуляция клеточных делений при изменениях продолжительности светового дня.

Особое внимание среди регуляторных механизмов митоза уделяется половым гормонам (О. И. Епифанова, 1965б) и прежде всего эстрогенам, являющимся специфическими стимуляторами процессов роста в органах воспроизводящей системы и некоторых железах внутренней секреции. Интерес к эстрогенам связан с данными экспериментальной онкологии о возникновении очагов усиленной пролиферации, иногда приобретающих злокачественный характер. При изучении гормональных влияний на деление клеток следует всегда иметь в виду сложные взаимоотношения внутри самой эндокринной системы.

Вопросы регуляции митоза, его патологии тесно связаны с проблемой опухолевого роста, для которого характерны нарушения митотического цикла и возникновение патологических форм митоза (Х. Оберлинг, В. Берихард, 1963; Алов, 1965). Неорганизованный характер размножения клеток в

Таблица 21
Ингибиторы цикла деления и пункты необратимости
(по Р. Г. Цаневу и Г. Г. Маркову, 1964)

Процесс	Период чувствительности	Ингибирующие агенты	Пункт необратимости	Механизм действия ингибирующих агентов
Синтез ДНК	Пресинтетический период (G_1)	Воздействие ионизирующей радиацией и ультрафиолетовыми лучами ¹	Переход из G_1 в S-период	Подавление появления энзимов, участвующих в синтезе ДНК
Синтез РНК с участием ядрышка	Интерфаза, профаза	Разрушение ядрышка фокусированным облучением (ультрафиолетовые и ионизирующие лучи)	Определенный момент профазы	Блокирование функции ядрышка
Начало деления	Интерфаза: максимум чувствительности в конце периода G_2	Воздействие ионизирующей радиацией и ультрафиолетовыми лучами	Момент, немного предшествующий началу профазы	Нарушение окислительного фосфорилирования (наполнения энергетического резервуара); повреждение клеточных структур
Движения хромосом во время анафазы	Метафаза	Ингибиторы дыхания, окислительного фосфорилирования и гликолиза Удаление части цитоплазмы	Момент метафазы	Оформление структур митотического аппарата
Цитокinesis	Анафаза	Яды митотического аппарата (колхицин и др.) Удаление митотического аппарата	Момент около середины анафазы	Нарушение наполнения энергетического резервуара

¹ По некоторым данным, ультрафиолетовое облучение оказывает влияние и на S-период, который чувствителен и к ионизирующей радиации.

опухолях связан, видимо, с нарушением клеточных функций, с изменением реакции клеток на воздействие факторов регуляции клеточных делений, с изменением биохимических механизмов митоза. Выяснение этих механизмов представляет предмет научных исканий биологов и медиков разнообразных профилей.

Не только физиологические факторы самого организма, но и различные чужеродные воздействия изменяют пролиферацию клеток в организме. Весь митоз в целом является сложной совокупностью процессов, протекающих последовательно. Длительность всего митотического цикла зависит от скорости протекания отдельных его периодов, неодинаково чувствительных к условиям среды. Разные фазы цикла чувствительны к различным агентам. Клетка, пройдя определенную фазу, чувствительную к данному агенту, становится полностью нечувствительной к его действию. Такие моменты в митотическом цикле Д. Мэзия называют «пунктами необратимости» (О. И. Епифанова, 1965а). Кроме установленных представлений о моментах наступления необратимости, Д. Мэзия выдвигает и представление о ряде независимых, параллельных, путей подготовки клетки к митозу. Анализируя различные элементы, из которых складывается митоз, В. Я. Александров (1962) пришел к выводу об автономности отдельных звеньев этого процесса.

В зависимости от биохимических процессов, на которые влияют различные агенты, оказывающие ингибирующее действие на митоз (табл. 21), их можно разделить на агенты, влияющие на наполнение «энергетического резервуара», — ингибиторы дыхательных или гликолитических процессов; агенты, влияющие на синтез белков, РНК и ДНК; агенты, действующие на формирование митотического аппарата или на уже сформированные его структуры. Если говорить об агентах, оказывающих стимулирующее влияние на митотический цикл, то их можно разделить на те же группы, что и ингибирующие агенты, т. е. рассматривать их влияние на отдельные фазы митотического цикла. Но, кроме того, при стимуляции может произойти и увеличение количества вступающих в деление клеток.

Эндомиоз, политения, полиплоидия. Амитоз

В ряде случаев во время митоза может не произойти цитотомии, и тогда в одной клетке окажутся два ядра, т. е. клетка будет содержать двойной набор хромосом. Увеличение набора хромосом может быть и без увеличения

числа ядер, т. е. может произойти репродукция ядерного материала, но он останется в одном ядре, — эндомитоз.

Для эндомитоза характерно сохранение ядерной оболочки и ядрышка, не наблюдается реорганизации цитоплазмы, не образуется веретена деления. Повторные эндомитозы приводят к возникновению гигантских ядер, содержащих до 1000, а иногда и больше наборов хромосом. Эндомитоз часто встречается в разных тканях нематод, насекомых, ракообразных; он характерен и для растущих участков корней растений. При эндомитозе хромосомы обычно проходят такой же цикл спирализации и деспирализации, как и при митозе (А. А. Прокофьева-Бельговская, 1960). В настоящее время, применяя меченый тимидин, можно уверенно говорить о наличии эндомитоза, приводящего к полиплоидии (см. главу X), в том случае, когда не наблюдаются митозы, а происходят периодический синтез ДНК (обнаруживаемый цитофотометрически или авторадиографически) и увеличение размеров ядер.

Увеличение количества ДНК в ядрах может происходить и без реорганизации ядерного и цитоплазматического материала, а может быть связан с увеличением лишь количества хромонем, нуклеопротеидных нитей, образующих хромосомы. В результате такого процесса — *политении* — возникают гигантские хромосомы, называемые также *политенными* (см. главу X).

Полиплоидия — кратное увеличение числа хромосом в ядрах — может возникнуть и при нарушении механизма митоза при ряде воздействий на клетку, разрушающих веретено деления, когда хромосомы не могут разойтись к полюсам и остаются в одном ядре, но в увеличенном количестве (В. К. Щербатов, 1962).

Хотя полиплоидия всего организма — редкое явление у раздельнополых животных, отдельные полиплоидные клетки весьма часто встречаются в разных тканях — так называемая *соматическая полиплоидия* (В. Я. Бродский, 1964а). Она возникает в результате эндомитоза или *абортивного митоза*. Образовавшиеся отдельные клетки с увеличенным количеством хромосом отличаются более крупными размерами ядра и всей клетки.

Полиплоидию можно установить по трем взаимосвязанным процессам: 1) увеличенное количество хромосом, обнаруживаемое в течение митоза или эндомитоза; 2) увеличенное количество ДНК в неделящихся ядрах (цитоспектрофотометрически); 3) увеличение размеров ядер и клеток. Оказалось, что эндомитоз и соматическая полиплоидия наблюдаются как при дифференцировке нормальных клеток (например, переходного эпителия, выстилающего почечные лоханки,

мочеточники, мочевой пузырь, мегакариоцитов, остеобластов), так и при различных воздействиях на организм (например, в клетках печени, мезотелия) (Л. Н. Жинкин, 1962).

Сопоставляя митоз и эндомитоз, мы видим, что механизм редупликации хромосом, связанный с удвоением количества ДНК, оказывается при этих процессах одинаковым. Во время митотического цикла, однако, после этого периода (S) ядро становится тетраплоидным, и на следующих фазах происходит растворение ядерной оболочки и наблюдаются все другие изменения, заканчивающиеся образованием двух диплоидных клеток. При эндомитозе после такого же периода S, когда удваивается ДНК, ядерная оболочка не исчезает и при отсутствии всего характерного для митоза комплекса изменений в результате возникает полиплоидная клетка.

Г. В. Лопашов считает (1947), что происходящее при эндомитозе увеличение размеров клеток создает возможность развития и увеличения сложных функциональных структур. Клетка при эндомитозе сохраняет способность функционировать в дифференцированном состоянии. Таким образом, у многоклеточных организмов полиплоидия — это процесс регуляции, когда при меньшем количестве крупных клеток осуществляется та же функция, что и при большем количестве клеток, но меньших по размеру. Увеличение в организме с возрастом полиплоидных клеток восстанавливает активную массу органа, т. е. становится фактором физиологической его регенерации (Л. Н. Жинкин, В. Я. Бродский и З. С. Лебедева, 1961; В. Я. Бродский, 1964а).

Полиплоидные клетки могут быть с одним или с несколькими ядрами. Многоядерные клетки всегда оказываются полиплоидными. Обычно их описывают как результат прямого деления — амитоза.

Амитоз. При амитозе ядро разделяется на две части, деления цитоплазмы обычно не происходит; к амитозу относят также и случаи фрагментации ядер (Bucher, 1959). В различные периоды развития цитологии и смежных с ней дисциплин амитоз рассматривали по-разному. В период усиленной разработки хромосомной теории наследственности ему не придавали значения в развитии организмов, считая его патологической формой размножения, свойственной лишь стареющим клеткам или крайне специализированным. В период же острых нападков на классические основы генетики многие авторы пытались доказывать, что амитоз и митоз — равноценные типы размножения. Иногда рассматривали амитоз как более примитивную форму клеточного деления, свойственную будто бы лишь молодым, эмбриональным клеткам. На основании фактов из сравнительной цитологии, протистологии и изучения эмбрионального гистогенеза

А. Г. Кнорре (1959) пришел к заключению, что митоз — первичная форма размножения и в онтогенезе, и в филогенезе. Что же касается амитоза, то он возникает в некоторых специализированных клетках и не сопровождается исключением клеток из специфического функционирования.

Возможно, амитоз является условием сохранения и длительного нарастания дифференцировки клеток, а также увеличения поверхности ядер, необходимого для интенсивной дифференцировки (Г. В. Лопашев, 1947).

Для оценки функционального значения прямого деления важно знать, осуществляется ли синтез ДНК при амитозе и в какой зависимости находятся эти процессы. Особый интерес представляют данные о способности синтеза ДНК ядрами двухъядерных и многоядерных клеток, возникших в результате прямого деления (Л. Н. Жинкин, В. Я. Бродский и Г. С. Лебедева, 1961; Н. Г. Хрущов, И. В. Заборская, 1964). Авторадиографические исследования (В. Я. Бродский, Н. Г. Хрущов, 1962) показали, что амитоз может произойти или в периоде синтеза ДНК, или в предмитотическом (постсинтетическом) периоде митотического цикла. Обнаружение метки сразу же после введения изотопа в амитотически делящееся ядро свидетельствует о синтезе ДНК в момент амитоза.

В отличие от клеток, разделившихся путем митоза, равномерное разделение ДНК между ядрами наблюдается только в части клеток амитотического происхождения; синтез ДНК происходит не во всех делящихся амитозом ядрах, причем увеличение количества ДНК при амитозе осуществляется незакономерно, в то время как при митозе оно всегда кратное. Образующиеся в результате амитоза двухъядерные клетки содержат увеличенные по сравнению с диплоидными клетками количества ДНК. Многие их химические свойства сходны с одноядерными полиплоидными клетками. Амитоз может быть одной из форм возникновения полиплоидных клеток (В. Я. Бродский, 1964). Выдвигается положение, что амитоз нормализует ядерно-цитоплазматические отношения и увеличивает активную массу клетки.

В. Я. Бродский (1964) на основании многочисленных собственных исследований и анализа литературных данных приходит к выводу, что амитоз — это преимущественно внутриклеточная регулятивная реакция.

ЛИТЕРАТУРА

- Александров В. Я. Цитология, 1962, IV, 1, 3—17.
Алов И. А. Очерки физиологии митотического деления клеток. М., 1964, 367—394.
Алов И. А. Вестник АМН СССР, 1965, II, 58—66.

- Бродский В. Я. Журн. общ. биол., 1964а, 25, 39—50.
 Бродский В. Я. Успехи совр. биол., 1964, 58, 3 (6), 367—394.
 Бродский В. Я., Хрущов Н. Г. ДАН СССР, 1962, 147, 4, 939—942.
 Гейльбрун Л. Динамика живой протоплазмы. М., 1957.
 Гурвич А. и Л. Митогенетическое излучение. М., 1945.
 Епифанова О. И. Цитология, 1965а, VII, 1, 15—23.
 Епифанова О. И. Гормоны и размножение клеток. М., 1965.
 Жинкин Л. Н. Арх. анат., гистол. и эмбриол., 1962, 1, 3—21.
 Жинкин Л. Н., Бродский В. Я., Лебедев Г. С. Цитология, 1961, 3, 5, 514—521.
 Заварзин А. А. Избранные труды. Т. 1, 2, 3, 1950, 1952, 1953.
 Кацнельсон З. С. Клеточная теория в ее историческом развитии. Л., 1963.
 Кацнельсон З. С. Основные этапы развития цитологии. В кн.: Руководство по цитологии. М.—Л., 1965, 16—41.
 Киорре А. Г. Цитология, 1959, 1, 5, 494—509.
 Красильникова Н. В. Бюлл. exper. биол. и мед., 1963, 8, 93—97.
 Лопашов Г. В. Механизмы образования клеточных типов. Успехи совр. биол., 1947, 24, 6, 453—476.
 Мэзия Д. Биофизические и биохимические исследования клеточного деления. В кн.: Вопросы биофизики. М., 1957, 136—204.
 Мэзия Д. Как клетки делятся. В кн.: Живая клетка. М., 1962, 67—92.
 Мэзия Д. Митоз и физиология клеточного деления. М., 1963.
 Оберлинг Х., Берихард В. Морфология раковых клеток. В кн.: Функциональная морфология клетки. М., 1963, 316—366.
 Полиплоидия. Сборник статей под редакцией и с предисловием П. А. Баранова и Б. Л. Астаурова. М., 1956.
 Полянский Ю. И. и И. Б. Райков. Цитология, 1960, II, 5, 509—518.
 Прокофьева-Бельговская А. А. Цикл ядра и дифференциация соматических клеток. В кн.: Вопросы цитологии и общей физиологии. М.—Л., 1960.
 Свани М. М. Роль ядра в процессах оплодотворения, митоза и клеточного деления. В кн.: Современные проблемы цитологии. Под редакцией М. Н. Мейселя. М., 1955, 311—328.
 Хрущов Н. Г., Заборская И. В. ДАН СССР, 1964, 155, 6, 1435—1436.
 Цанев Р. Г., Марков Г. Г. Биохимия клеточного деления. М., 1964.
 Щербаков В. К. Цитология, 1962, IV, 5, 477—489.
- Baker R., Joseph S., Meek G. A. Membrane interrelationships during meiosis. В кн.: Electron microscopy anatomy. London, 1961, 160—175.
 Beatty R. A. Parthenogenesis and polyploidy in mammalian development. Cambridge, 1957.
 Bibring T., Cousineau G. H. Nature, 1964, 21, 4960, 805—805.
 Bucher O. Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle. Protoplasmatologia. Wien, 1959.
 Buck R. C., Tisdale J. M. J. Cell Biol., 1962, 13, 1, 117—125.
 Bullough W. S. Biol. Rev., 1962, 37, 3, 307—342.
 Bungenberg de Jong C. M. Genetica, 1957, XVII, 111, 228.
 Epel D. J. Cell Biol., 1963, 17, 2, 315—319.
 Gross P. R., Cousineau G. H. J. Cell Biol., 1963, 19, 1, 260—265.
 Harris P. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1961, 11, 2, 419—431.
 Harven E., Bernhard W. Ztschr. Zellforsch., 1956, 47, 378.
 Hiramoto J. J. Cell Biol., 1965, 25, 1, 161—166.
 Hughes A. F., Swann M. M. J. Exp. Biol., 1948, 25, 45.
 Jnué S. Chromosoma, 1953, 5, 487.
 Kane R. E., Hersch R. T. Exp. Cell Res., 1959, 16, 59.

- Kawamura K. Exptl. Cell Res., 1960, 21, 9.
- Linnartz-Niklas A., Hempel K., Maurer W. Autoradiographische Untersuchung. Ztschr. Zellforsch., 1964, 62, 4, 443—453.
- Mazia D., Harris P. J., Bibring T. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1960, 7, 1, 1—20.
- Porter K. R., Machado R. D. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1960, 7, 1, 167—180.
- Prescott D. M. Internat. Rev. Cytol., 1961, 11, 255—282.
- Prescott D. M., Bender M. A. Exptl. Cell Res., 1962, 26, 2, 260—268.
- Robbins E., Gonatas N. K. J. Cell Biol., 1964, 21, 3, 429—463.
- Roberts, Johnson, 1956 (Цит. по Д. Мэзия, 1963).
- Roth L. E., Daniels E. W. J. Cell Biol., 1962, 12, 1, 57—78.
- Ruby A., 1961 (Цит. по Д. Мэзия, 1963).
- Sisken J. E., Kinoshita B. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1961, 9, 509.
- Smidt W. J. Chromosoma, 1939, 1, 253.
- Stafford D. W., Iverson R. M. Science, 1964, 143, 3606, 580—581.
- Swann M. M. J. Exptl. Biol., 1951, 28, 417—434.
- Went H. A. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1959, 6, 3, 447.
- Went H. A., Mazia D. Fibrillar systems in the mitotic apparatus. В кн.: Macromolec. Complex. N. J. Ronald Press, 1961, 161—177.

XII

ФАГОЦИТОЗ И ПИНОЦИТОЗ

Фагоцитоз

Фагоцитоз (от греческих слов «phago» — пожираю и «cytos» — клетка), основы учения о котором заложены классическими исследованиями И. И. Мечникова, представляет важнейшее явление общебиологического значения. У простейших фагоцитоз служит основным способом питания. У более высоко организованных животных он представляет защитную реакцию, осуществляемую специализированными клетками — микрофагами (нейтрофильными лейкоцитами) и макрофагами (клетками ретикуло-эндотелиальной системы).

В данной главе мы остановимся на обсуждении лишь основных закономерностей фагоцитоза в аспекте медицинской цитологии.

В самой общей форме фагоцитоз может быть охарактеризован как процесс поглощения и переваривания фагоцитирующими клетками различных корпускулярных объектов (частиц), которые являются или становятся инородными для всего организма или для отдельной его части. Данная формулировка, отмечающая, что фагоцитозу подвергаются, в частности, объекты, ставшие инородными для того или ино-

го отдела внутренней среды организма, в известной мере отличается от ряда фигурирующих в литературе (см. например, А. Д. Адо, 1957, и др.). Однако она кажется нам более полной по следующим соображениям.

В организме человека и других высших животных к числу основных, наиболее часто встречающихся объектов фагоцитоза относятся различные микроорганизмы, погибшие клетки или их фрагменты, а также различные инородные тела, например пылевые частицы, интенсивно фагоцитируемые в легких. Такие частицы в физиологических условиях фагоцитируются именно в легком в силу естественных причин их попадания сюда вместе со вдыхаемым воздухом. Однако если по тем или иным причинам пылевые частицы проникнут в организм иным путем (например, вследствие загрязнения раны), то они также подвергнутся фагоцитозу, поскольку они являются для организма инородными телами вне зависимости от их локализации. Это же относится и к ряду микроорганизмов. В других случаях фагоцитозу могут подвергаться объекты, являющиеся чужеродными лишь для данного отдела внутренней среды организма, например эритроциты, попавшие вследствие тех или иных причин в брюшную полость. Другим примером сказанного могут служить некоторые бактерии, входящие в состав нормальной микрофлоры кишечника. Находясь в его просвете, они не вызывают фагоцитоза в качестве ответной реакции организма-хозяина на их пребывание в нем. Но если эти же микробы проникнут в ткани стенки кишечника или в кровь, то они подвергнутся фагоцитозу как объекты, инородные для их нового местонахождения.

Приведенное выше общее определение фагоцитоза не предусматривает конкретного исхода процесса. В зависимости от соотношения свойств фагоцита и фагоцитируемого объекта он в разных случаях различен. Так, одни микроорганизмы не только поглощаются, но и перевариваются фагоцитирующими клетками (завершенный фагоцитоз), другие только поглощаются, но не перевариваются, сохраняя свою жизнеспособность (незавершенный фагоцитоз). Такие инородные тела, как частицы угля, туши, двуокиси тория, интенсивно поглощаются клетками, но не перевариваются. Фагоцитироваться могут объекты лишь определенного размера. Величина других инородных тел настолько значительна по сравнению с величиной фагоцита, что такие тела не могут поглощаться клетками.

В дальнейшем изложении мы не будем касаться подобных вопросов, как выходящих за рамки поставленной задачи, и ограничимся изложением лишь общих закономерностей фагоцитоза.

СТАДИИ ФАГОЦИТОЗА

Согласно И. И. Мечникову, фагоцитоз складывается из четырех последовательных стадий: 1) сближения объекта фагоцитоза и фагоцита благодаря амебоидным движениям последнего; в значительной мере это определяется хемотаксисом, испытываемым фагоцитом в отношении подлежащего фагоцитозу объекта (или вещества); 2) стадии аттракции, т. е. тесного сближения фагоцитирующей клетки и располагающегося на ее поверхности объекта фагоцитоза; 3) поглощения; 4) переваривания.

Наличие положительного или отрицательного хемотаксиса фагоцитов по отношению к самым разнообразным веществам многократно описано и легко может быть продемонстрировано экспериментально при использовании следующей методики. Каплю крови наносят на предметное стекло; за время свертывания капли лейкоциты мигрируют на поверхность стекла, прикрепляясь к нему. Затем образовавшийся сгусток удаляют и поверх лейкоцитов на стекло помещают небольшой кусочек свернувшейся плазмы крови, к которой предварительно (до свертывания) было добавлено исследуемое вещество. Под влиянием хемотаксиса лейкоциты отрываются от поверхности стекла и проникают в сгусток плазмы.

Однако, по мнению ряда исследователей, первая из названных четырех стадий не является обязательной, поскольку в ряде случаев нет прямого соответствия между фагоцитарной активностью клетки и ее чувствительностью к хемотропному действию тех или иных агентов. Так, например, несмотря на слабый хемотаксис, гистиоциты энергично фагоцитируют туберкулезную палочку, а ряд веществ (например, яичный желток) хотя и привлекает макрофаги, но ими слабо фагоцитируется. Интенсивно фагоцитируемые частицы туши, кармина, кварца не оказывают хемотаксического действия. Допускается также, что сближение фагоцита и объекта фагоцитоза может происходить в результате простого столкновения как частиц, взвешенных в данной среде, и в отсутствие амебоидных движений. С этой точки зрения вероятность встречи фагоцитов и подлежащих фагоцитозу объектов должна зависеть от числа тех и других. Поэтому особое внимание было уделено экспериментальной проверке данного предположения. Действительно, оказалось, что чем больше микробов содержится в единице объема среды, тем при прочих равных условиях фагоцитирование их лейкоцитами происходит интенсивнее. Равным образом и нарастание числа фагоцитов увеличивает суммарное число фагоцитированных микробов, хотя интенсивность фагоцитоза, осуществляемого каждым лейкоцитом, снижается. Во взвеси лей-

коциты не образуют псевдоподий (в отличие от наблюдаемого при нахождении этих клеток на плотном субстрате, например на стекле), но интенсивно фагоцитируют.

Указывалось также, что амебоидные движения имеют значение не столько для сближения фагоцита и подлежащего фагоцитозу объекта, сколько для погружения последнего в цитоплазму фагоцита (см. ниже). Наконец, было отмечено, что при одном из типов фагоцитоза у амёб (фагоцитозе путем внесения объекта в фагоцит) амебоидные или какие-либо другие активные движения цитоплазмы отсутствуют. Аналогичный тип фагоцитоза путем внесения описан при фагоцитозе лейкоцитами человека частиц кармина, при поглощении туберкулезных палочек или частиц кармина гистиоцитами куриного эмбриона в культуре ткани.

По данным А. Ф. Иваницкой (1950), прижизненно исследовавшей в культуре ткани фагоцитоз микро- и макрофагами невирулентной бактерии *Кариофан широкий*, механизм ее поглощения фагоцитами обоих типов неодинаков. Фагоцитоз лейкоцитами совершается путем натекания на бактерий, их обтекания, обволакивания и погружения в тело клетки. Макрофаги же снабжены ундулирующей мембраной с рядом псевдоподий — «ковшей». Двигаясь навстречу бактерии, макрофаг вытягивает к ней псевдоподии, которые достигают бактерии, а затем как бы вдавливают ее в мембрану, причем сокращения псевдоподий ускоряют этот процесс. С изложенными данными хорошо согласуются результаты приводимых ниже электронномикроскопических исследований, согласно которым псевдоподии наблюдаются лишь у части фагоцитирующих клеток. В ряде же случаев фагоцитоз происходит, хотя псевдоподии не образуются.

Следуя И. И. Мечникову, А. Д. Адо (1963) считает целесообразным все же сохранить подразделение фагоцитоза на четыре стадии, подчеркивая вместе с тем в значительной мере условный характер такого подразделения, поскольку одна стадия постепенно переходит в другую и их разграничение зачастую невозможно.

МЕХАНИЗМ ФАГОЦИТОЗА

Амебоидные движения. Амебоидные движения лейкоцитов совершаются со скоростью до нескольких десятков микронов в минуту, причем наиболее быстро перемещаются нейтрофильные лейкоциты. Скорость перемещения нейтрофилов человека достигает 45—50 μ в минуту, в то время как скорость перемещения лимфоцитов колеблется от 4 до 30, а эозинофилов — от 1,5 до 9 μ в минуту. По данным

А. Ф. Иваницкой (1950), нейтрофильные лейкоциты и макрофаги аксолотля перемещаются в общем одинаково быстро, причем лейкоциты преодолевают за 1 минуту расстояние в 33—40 μ .

Результаты наблюдений, касающихся выяснения механизма амебоидных движений, приведены в главе XIII.

Стадия аттракции. Механизм данной стадии объясняют чисто физико-химическими закономерностями, среди которых

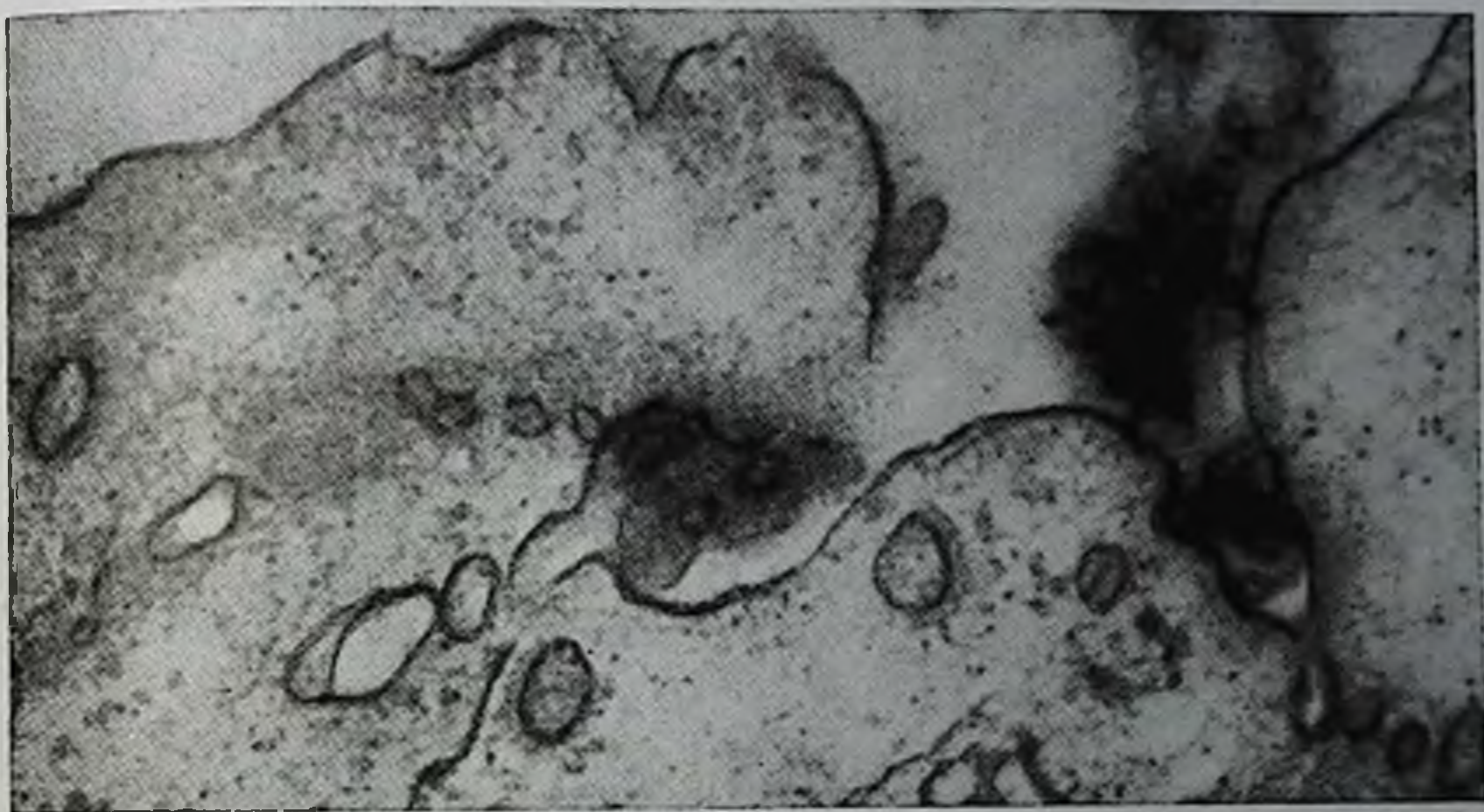


Рис. 95. Инвагинация плазматической оболочки в участке контакта с белком, окрашенным красителем Т-1824. Электроннограмма. Увеличение $\times 105\,000$ (по Каггер, 1960).

важное значение придают состоянию пограничного натяжения между подлежащей фагоцитозу частицей и фагоцитирующей клеткой. Большую роль поэтому играет наличие или отсутствие в среде веществ (в частности, белковых), которые могут изменять свойства поверхностей контактирующих объектов. Это продемонстрировано с помощью специально разработанной методики, основанной на применении фильтров, которые пропускают не связанных с макрофагами бактерий и задерживают связанных с ними. Применив такие фильтры, Auzins и Rowley (1963), показали, что аттракция *S. typhimurium* S₅ и макрофагов происходит лишь в случае, если микробы были предварительно опсонизированы, т. е. подвергнуты действию белков сыворотки крови. В числе других факторов, обуславливающих аттракцию, отмечены вязкость цитоплазмы фагоцита и поверхностный заряд объекта фагоцитоза и фагоцита.

Поглощение фагоцитом объекта фагоцитоза. Согласно результатам электронномикроскопических исследований по-

следних лет, погружение фагоцитируемых субстанций в цитоплазму фагоцита совершается одним из двух способов. При первом из них в месте соприкосновения фагоцитируемого тела и поверхности фагоцита плазматическая оболочка последнего инвагинируется (рис. 95). По-видимому, это связано с локальными изменениями поверхностного натяжения или какими-то иными физико-химическими изменениями. О нали-

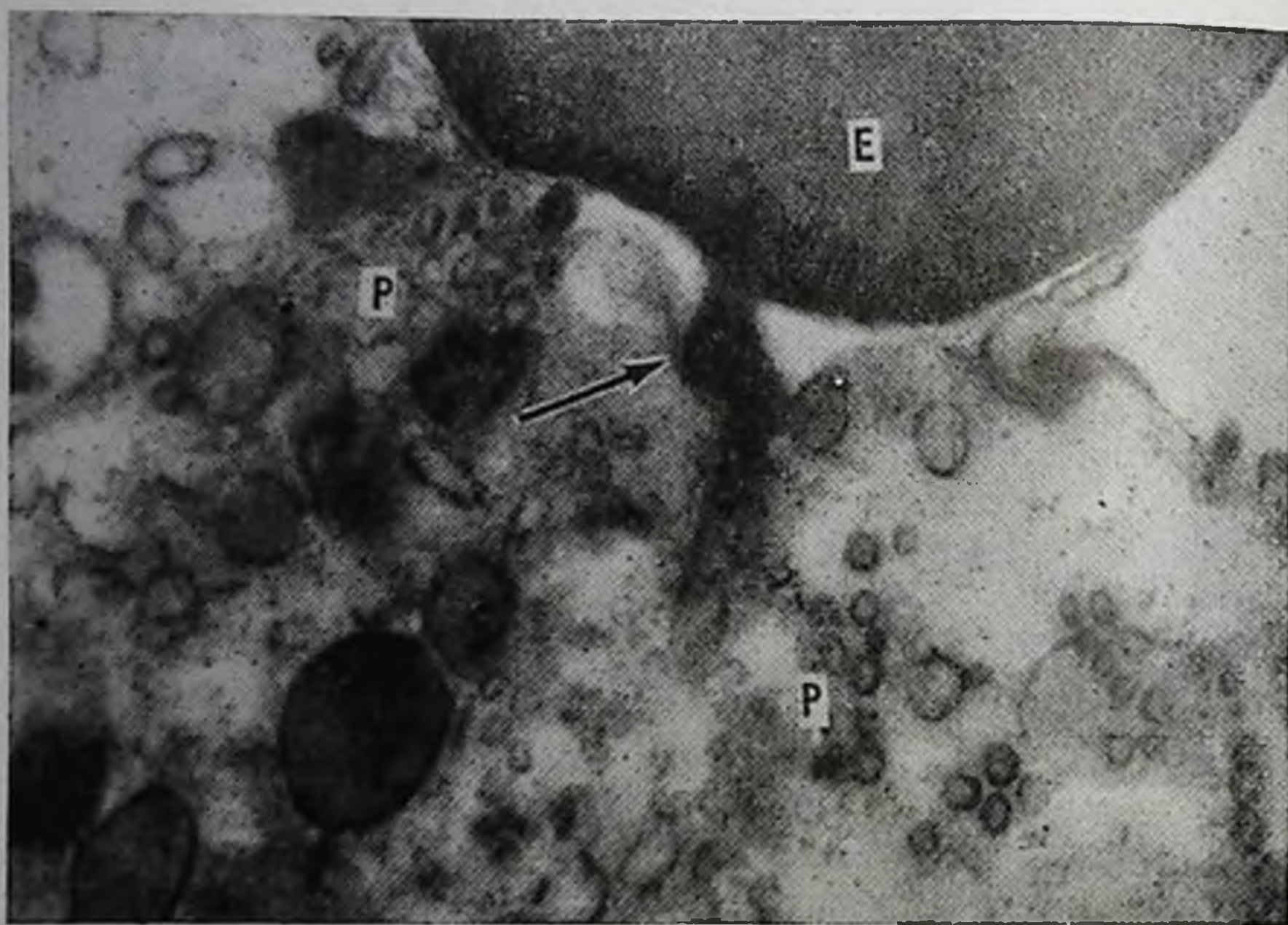


Рис. 96. Поглощение фрагмента эритроцита (помечен стрелкой) путем инвагинации плазматической оболочки. Электроннограмма. Увеличение $\times 42\,000$ (по Essner, 1960).

E — эритроцит; *P* — пиноцитозные пузырьки.

чий их свидетельствует, в частности, изменение электронной плотности тех участков плазматической оболочки, которые контактируют с объектом фагоцитоза. Вместе с тем у амёб в таких участках наблюдается повышение активности кислой фосфатазы. Участок инвагинации углубляется, все более вдаваясь в глубь цитоплазмы фагоцита. Затем свободные края клеточной оболочки в месте начала инвагинации сливаются, а инвагинировавшая часть оболочки, окружающая объект фагоцитоза, обособляется. В результате фагоцитированное тело и окружающий его участок плазматической мембраны свободно располагаются в цитоплазме. Таким способом, в частности, поглощаются частицы угля в легком (Karrer, 1960), эритроциты в легком (рис. 96, 97) и частицы

туши в купферовских клетках печени (Tögö, Ruzsa, Röhlich, 1962).

Другой способ поглощения наблюдается, например, при фагоцитозе стафилококка лейкоцитами человека и некоторых лабораторных животных (морские свинки). При этом плазматическая оболочка и подлежащий слой цитоплазмы лейкоцита образуют подобие псевдоподий в участке контакта

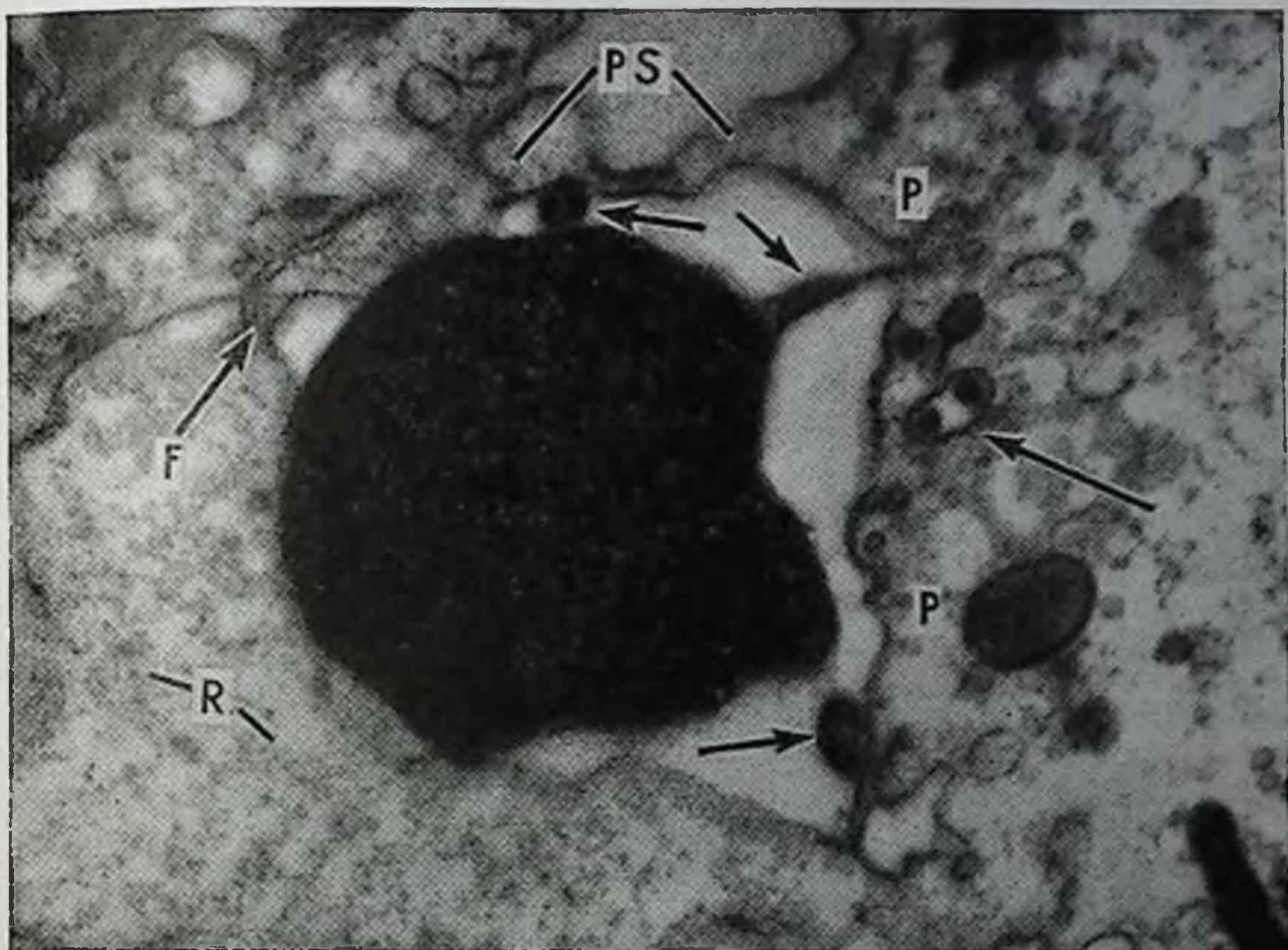


Рис. 97. Образование пищеварительной вакуоли, содержащей эритроцит и два его фрагмента, при участии псевдоподий (*pS*). Электроннограмма. Увеличение $\times 42\,000$ (по Essner, 1960).

R — рибосомы; *P* — пиноцитозный пузырек; *F* — частицы ферритина.

со стафилококком. Псевдоподии все более обволакивают микробов, которые затем вместе с окружающими их участками плазматической оболочки погружаются в цитоплазму фагоцита, отделяясь от поверхности клетки. В дальнейшем погружившиеся вглубь участки плазматической оболочки преобразуются в оболочку пищеварительной вакуоли, в которой располагаются микробы (Brewer, 1963). Имеются, однако, наблюдения, согласно которым участок плазматической оболочки, вначале окружающий фагоцитированных микробов, позднее лизируется. На этом этапе фагоцитоза поглощенные микробы свободно располагаются в цитоплазме; затем они проникают в вакуоли, оболочка которых формируется заново (Goodman, Moore, 1956).

Сходным с описанным выше способом фагоцитируются эритроциты и другие клетки: вокруг их фрагментов макрофаги формируют псевдоподии, а после смыкания краев последних образуется внутриклеточная вакуоль с лежащим в ней фрагментом (рис. 98). Таким образом, захват фагоци-

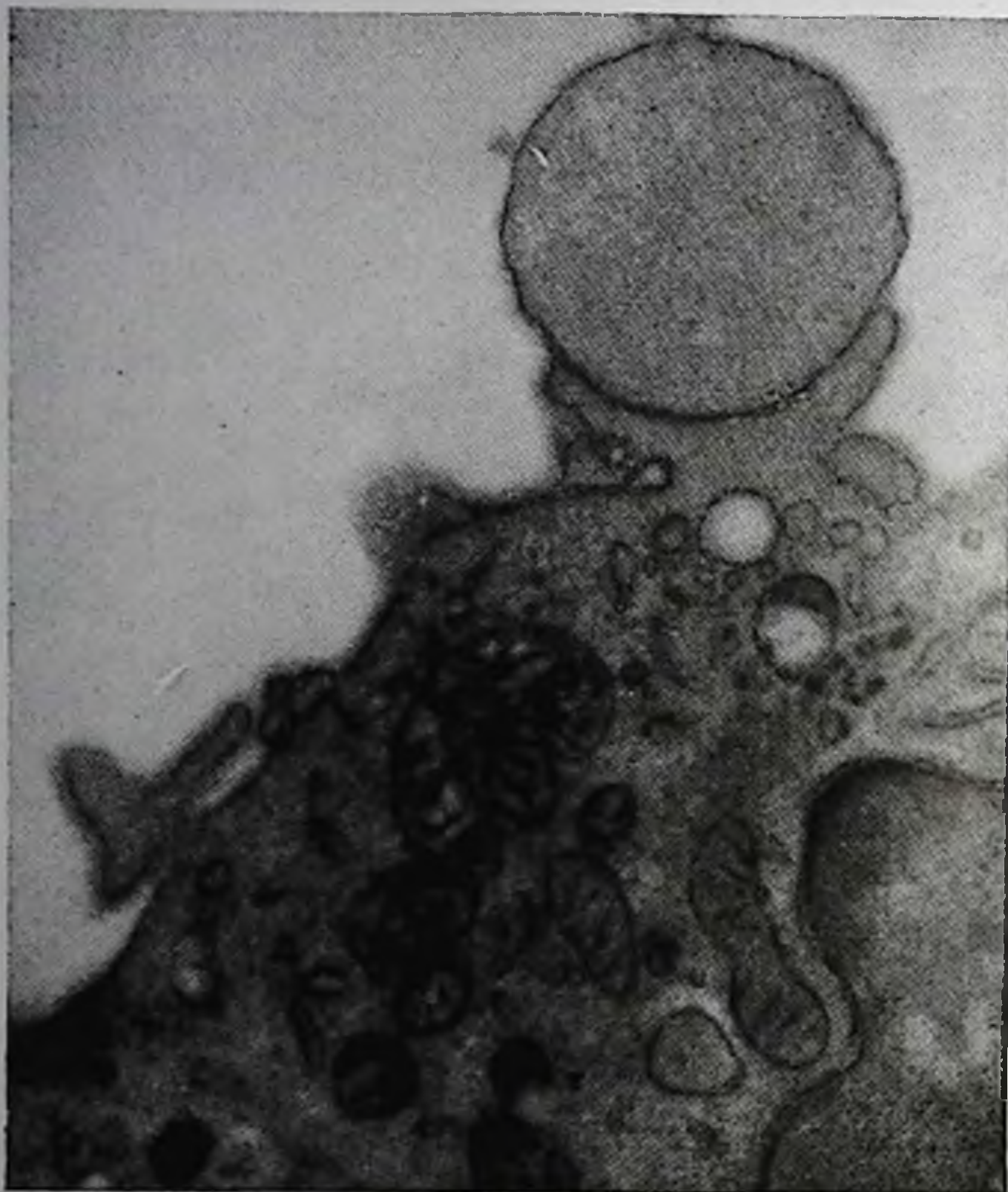


Рис. 98. Захват фрагмента клетки псевдоподиями макрофага. Электроннограмма. Увеличение $\times 25\,000$ (оригинал).

тированного тела и в данном случае происходит преимущественно путем его обволакивания с поверхности, а не погружения благодаря образованию инвагинации, что наблюдается позднее. Так как процесс протекает на значительном расстоянии от элементов эндоплазматической сети и комплекса Гольджи, то нет оснований приписывать этим органоидам участие в образовании внутриклеточных пищеварительных вакуолей (Essner, 1960).

Как следует из изложенного, поглощение объекта фагоцитоза фагоцитирующими клетками (как микро-, так и макрофагами) происходит при активном участии плазматиче-

ской оболочки, целостность которой каждый раз восстанавливается после погружения фагоцитированного объекта в цитоплазму. Имея это в виду, естественно ожидать усиления в фагоцитирующих клетках синтетических процессов, направленных на восстановление вещества оболочки. Действительно, оказалось, что в ходе фагоцитоза значительно усиливается включение P^{32} в фосфорсодержащие соединения и, вероятно, в липиды микро- и макрофагов (Oger и др., 1963). При поглощении фагоцитированных субстанций лейкоцитами включение ацетата- C^{14} в липиды возрастает до 50%. Так как свободных липидов в цитоплазме лейкоцитов нет, то, по-видимому, данные сдвиги свидетельствуют об усиленном биосинтезе липидов, входящих в состав плазматической оболочки (Kagnovsky, 1962).

Для объяснения причин поглощения клетками объектов фагоцитоза в свое время основывались на результатах модельных опытов со втягиванием инородных тел, смоченных различными жидкостями (вода, глицерин, прованское масло, хлороформ и др.), в стеклянный капилляр. Высказывались гипотезы, что поглощение клетками фагоцитируемых объектов представляет чисто физико-химический процесс, определяемый силами сцепления и поверхностного натяжения на границе объект фагоцитоза — фагоцит и объект фагоцитоза — среда (Rumbler, 1910, и др.).

Разумеется, нет оснований недооценивать значение этих физико-химических закономерностей. О значении свойств поверхности фагоцитируемых веществ для их фагоцитабельности свидетельствуют, например, следующие наблюдения; фагоцитабельность ряда кислотоустойчивых бактерий изменяется после обработки их специфическими иммунными сыворотками. Вместе с тем и параллельно этому изменяются и свойства поверхности данных бактерий. В результате, если поместить их на границе двух сред: воды и не смешивающейся или плохо смешивающейся с ней жидкости (изобутиловый спирт и др.), то обработанные сывороткой бактерии распространяются в водную фазу, хотя до обработки они находились в органической фазе (изменение междуфазной реакции Мэдда). Значение поверхностного натяжения на границе фагоцит — среда для погружения объекта в фагоцитирующую клетку подчеркивали Ponder (1928) и ряд других авторов. При центрифугировании лейкоцитов, предварительно фагоцитировавших парафиновое масло определенного удельного веса, Ponder определял скорость центрифугирования, необходимую для того, чтобы капельки масла «пробибли» под влиянием центробежной силы поверхностный слой цитоплазмы и проникли в среду, которая окружает клетки. Этим методом было установлено, что поверхностное натяже-

ние на границе лейкоцит — раствор Рингера — Локка составляет от 1,1 до 3,4 дин/см при диаметре фагоцитированных частиц 5—10 μ .

О значении состояния среды, в которой происходит фагоцитоз, свидетельствуют и данные, что в присутствии сыворотки крови фагоцитоз микробов происходит интенсивнее, чем в физиологическом растворе. Это объясняют тем, что в присутствии белков сыворотки повышается способность микробов к сцеплению с поверхностью фагоцита. В присутствии иммунной сыворотки поглотительная активность фагоцитов возрастает. Данный эффект обусловлен воздействием именно на подлежащих фагоцитозу микробов, так как при отдельной обработке микробов и фагоцитов (лейкоцитов) сывороткой с последующим отмыванием ее физиологическим раствором фагоцитоз стимулируется лишь после воздействия сыворотки на микробы, а не на лейкоциты.

Несмотря на очевидную доказательность приведенных наблюдений, их значение не может быть переоценено. Одни физико-химические закономерности не объясняют всей совокупности процессов, совершающихся при фагоцитозе. Несомненно, весьма важное значение имеют особенности метаболизма фагоцитов.

В этом аспекте особое внимание было уделено выяснению роли аэробного дыхания фагоцитирующих клеток. Было установлено, что полиморфноядерные лейкоциты и мононуклеары кролика поглощают за 1 час 4—6 мм³ кислорода на 1 мг сухого веса клеток. Для лейкоцитов крыс и морских свинок это количество равно 9—16 мм³. Имеются также данные об увеличении потребления кислорода при фагоцитозе некоторых видов микробов (сарцин). Согласно наблюдениям Fischer (1959), потребление кислорода нейтрофильными лейкоцитами при поглощении каждым из них 2—3 бактерий возрастает на 10—20%, а при фагоцитозе 10—20 бактерий — на 100—200%. Таким образом, имеется определенный параллелизм между интенсивностью дыхания и фагоцитоза. Однако при фагоцитозе различных других микробов, а также крахмала и туши аналогичная взаимосвязь не отмечена (А. Д. Адо, 1961). Особенно важно, что при отравлении лейкоцитов цианистыми солями в концентрациях, резко угнетающих потребление кислорода, но не влияющих на гликолиз, фагоцитоз не тормозится. Отравление цианистым калием в концентрации 0,01—0,001 М не влияет на фагоцитоз лейкоцитами кишечной палочки (Н. В. Пучков, 1955). Установлено также, что при анаэробнозе или воздействии актиномицина А, блокирующего терминальные стадии дыхания через цитохромную систему, поглотительная активность лейкоцитов не угнетается.

Диаметрально противоположные результаты получены при изучении фагоцитоза в присутствии агентов, угнетающих гликолиз (йодацетат, фтористый натрий). Фагоцитоз лейкоцитами (Н. В. Пучков, 1955) и макрофагами из брюшной полости (Kagnovsky, 1962) при этом резко угнетается. Согласно отдельным наблюдениям, внесение в среду глюкозы, в особенности в комбинации с инсулином, отчетливо стимулирует фагоцитоз, осуществляемый лейкоцитами, и они продуцируют больше молочной кислоты. Значительное увеличение содержания в микро- и макрофагах гликогена после иммунизации животных цитохимически установлено М. П. Покровокой с сотрудниками (1959). Вместе с тем после иммунизации фагоцитарная активность клеток возрастает, что было определено еще Г. В. Выгодчиковым и Н. Мануйловой (1929).

Ввиду изложенного выше следует считать достаточно аргументированным представление, что энергия, необходимая для поглощения объектов фагоцитоза такими широко используемыми для изучения этого процесса клетками, как макрофагами и макрофагами из брюшной полости, обеспечивается (если не полностью, то преимущественно) благодаря гликолизу.

Заключение о важной роли гликолиза в поглотительной функции макрофагов согласуется с данными об определенном параллелизме между интенсивностью гликолиза и интенсивностью поглощения макрофагами объектов фагоцитоза: стимуляция указанной функции сопровождается значительным усилением продукции молочной кислоты (Whitby и др., 1961). В сопоставлении с приведенными выше данными вероятно, что вещества, активирующие фагоцитарную функцию макрофагов (в опытах Whitby с соавторами — бактериальные полисахариды), первично усиливают гликолиз, а это приводит к повышению поглотительной активности клеток.

Исследуя метаболизм фагоцитирующих лейкоцитов и макрофагов из брюшной полости и лепких подопытных животных в обычных условиях и в присутствии разнообразных ингибиторов (2,4-динитрофенол, цианиды, йодацетат, фтористый натрий), Огеп и соавторы (1963) вновь подтвердили, что основная энергия для поглощения объектов фагоцитоза лейкоцитами и макрофагами из брюшной полости обеспечивается благодаря гликолизу, интенсивность же поглотительной активности макрофагов из легких в значительной мере зависит от окислительного фосфорилирования.

Дальнейшее течение процесса фагоцитоза зависит от интимных соотношений между жизнедеятельностью фагоцитирующей клетки, свойствами и характером поглощенного объекта. В одних случаях фагоцитированный объект потен-

циально может перевариваться фагоцитом, и тогда третья фаза фагоцитоза переходит в четвертую — стадию переваривания. Это наблюдается, в частности, при фагоцитозе ряда микроорганизмов. В других случаях объект фагоцитоза может лишь поглощаться фагоцитом, но им не переваривается. Так обстоит дело в отношении ряда микроорганизмов, например возбудителей брюшного тифа, длительно остающихся жизнеспособными после поглощения их макрофагами. При интенсивном размножении соответствующих микроорганизмов в цитоплазме макрофагов последние нередко погибают, а микробы затем могут поглощаться другими макрофагами. Если же фагоциты фагоцитировали инертные частицы (например, частицы туши, двуокиси тория, широко используемые в экспериментальных целях), то такие частицы на сравнительно длительное время остаются в цитоплазме макрофагов, причем вокруг этих объектов фагоцитоза появляется тонкая прослойка ШИК-положительного вещества, как бы изолирующего их от окружающей цитоплазмы фагоцита. В дальнейшем такие частицы выделяются макрофагами во внутреннюю среду организма, вновь поглощаются другими клетками, а в конце концов могут выделяться из организма вместе с мокротой, фекалиями и т. д.

Стадия переваривания. В случае завершеного фагоцитоза поглощенные клетками объекты подвергаются внутриклеточному перевариванию, совершающемуся при участии ряда энзимов. Из числа их в нейтрофильных лейкоцитах (макрофагах) выявлены ДНК-аза, РНК-аза, несколько пептидаз (в том числе карбоксиполипептидаза, аминополипептидаза, дипептидаза), кислая и щелочная фосфатаза, липаза, β -глюкуронидаза, амилаза двух типов (лиоамилаза, легко извлекаемая из лейкоцитов, и более прочно связанная с ними десмоамилаза), мальтаза, сахараза, пероксидаза. Помимо того, в лейкоцитах содержится особое вещество — фагоцитин со свойствами глобулина. Он вызывает гибель микробов, не оказывая на них лизирующего действия. При температуре 37° действие фагоцитина проявляется весьма быстро (5—30 минут), при понижении температуры оно замедляется. В нейтрофильных лейкоцитах обнаружен и лизоцим. Однако он мало эффективен в отношении большинства патогенных микробов и в ряде случаев содержится лишь в очень малых количествах, поэтому роль лизоцима в лизисе фагоцитированных микроорганизмов не следует переоценивать (Х. Х. Плательес, 1963).

Sohn и Hirsch (1960a), исследуя изолированные гранулы нейтрофилов кролика, показали, что указанные гранулы содержат 70—80% от общего количества клеточного фагоцитина, подавляющее количество ДНК-азы, РНК-азы, кислой

и щелочной фосфатазы, β -глюкуронидазы, около 50% катепсинов. Вместе с тем лизис изолированных гранул происходит при рН около 5 (т. е. в кислой среде). При переваривании фагоцитированных субстанций число гранул в нейтрофилах снижается, а в надосадочной жидкости параллельно возрастает содержание фосфатазы, катепсинов, β -глюкуронидазы (Cohn, Hirsch, 1960). Из сопоставления результатов цитированных исследований двух авторов с данными, изложенными в главе VI, следует определенное сходство гранул нейтрофилов с лизосомами (содержание в тех и других ДНК-азы, РНК-азы, кислой фосфатазы, β -глюкуронидазы, катепсинов; энзиматическая активность в кислой среде; проникновение энзимов из гранул при фагоцитозе в соответствии с концепцией де Дюва).

Вместе с тем в гранулах нейтрофилов содержатся щелочная фосфатаза, фагоцитин, липаза, пероксидаза и лизоцим, отсутствующие в лизосомах. Поэтому А. Новиков (1963) считает возможным рассматривать гранулы нейтрофилов в качестве своеобразных лизосом.

Электронномикроскопически прослежено слияние гранул полиморфноядерных лейкоцитов кроликов с пищеварительными вакуолями в этих клетках. Поэтому допускается, что указанным способом в пищеварительные вакуоли поступают ферменты, содержащиеся в гранулах. Данный процесс рассматривается в качестве частного случая так называемого экзоплазмоза (Zucker-Franklin, Hirsch, 1964).

Из числа ферментов, с помощью которых может происходить переваривание фагоцитированных объектов, в макрофагах выявлены: протеазы двух типов (одна с оптимумом действия при рН 4,0, другая, напоминающая химотрипсин, с оптимумом действия при рН 5,0—5,8), кислая ДНК-аза, кислая РНК-аза, кислая фосфатаза, неспецифическая эстераза, возможно, псевдохоллинэстераза, липаза, β -глюкуронидаза, катепсины. Методами фракционного центрифугирования и биохимического исследования установлено, что кислая ДНК-аза, кислая РНК-аза, кислая фосфатаза, катепсины и β -глюкуронидаза выявляются в одной и той же фракции, в состав которой неспецифическая эстераза не входит. После фиксации O_3O_4 в макрофагах с помощью фазово-контрастной микроскопии выявлены гранулы. В них гистохимически и при комбинированном гистохимическом и электронномикроскопическом изучении определена активность кислой фосфатазы — фермента, типичного для лизосом.

При фагоцитозе бактерий цитоплазматические гранулы макрофагов, дающие положительную реакцию на кислую фосфатазу и рассматриваемые в силу этого в качестве лизосом, перестают выявляться в цитоплазме. Активность кислой

фосфатазы при этом значительно повышается в надосадочной жидкости. Одновременно в ней увеличивается активность катепсинов, β -глюкуронидазы, кислой ДНК-азы и РНК-азы, а также лизоцима (Cohn, Wiener, 1963).

Указанные энзиматические сдвиги крайне напоминают описанные выше применительно к нейтрофильным лейкоцитам. Эти данные привлечены рядом авторов для объяснения механизма стадии переваривания, исходя из представлений де Дюва о лизосомах (см. главу VI). Допускают, что в участках контакта пищеварительных вакуолей с лизосомами целостность или проницаемость оболочек последних нарушается (возможно вследствие ацидоза в протоплазме фагоцитов во время фагоцитоза — см. ниже) и в результате ферменты проникают из лизосом макрофагов или лизосомоподобных гранул лейкоцитов и воздействуют на фагоцитированные объекты, вызывая их переваривание.

Следует отметить, что энзиматическая активность микро- и макрофагов может значительно изменяться. Так, например, активность ряда ферментов (в том числе кислой фосфатазы) понижается в макрофагах под влиянием больших доз кортизона и возрастает после иммунизации животных. Соответственно изменяется и переваривающая способность фагоцитирующих клеток (А. И. Брауде и соавторы, 1962, 1964).

Воздействие йодацетата, цианидов и мышьяковистых соединений в дозах, угнетающих поглотительную активность фагоцитов, не влияет на интенсивность переваривания ими фагоцитированных микробов (Cohn, 1963). Имея в виду эти результаты пока нужно считать открытым вопрос об источнике энергетического обеспечения переваривания объектов фагоцитоза. Данные Cohn подчеркивают определенные различия в механизме третьей и четвертой фаз фагоцитоза и служат еще одним доказательством неправомочности суждения о фагоцитозе в целом на основании определения только интенсивности поглотительной функции фагоцитов. Последняя, как известно, определяется значительно легче, чем переваривающая способность этих клеток, поэтому поглотительная способность фагоцитов исследуется весьма широко. Это можно лишь приветствовать, но следует решительно возражать против использования полученных данных для характеристики всего процесса фагоцитоза. Такой обобщенный, недифференцированный подход лишь затрудняет анализ полученного фактического материала и зачастую приводит к необоснованным заключениям.

Цитохимические изменения в фагоцитирующих клетках изучены в серии исследований, проведенных румынским исследователем Mesrobian (1963). При фагоцитозе стафилококка лейкоцитами в последних через 24 часа отмечено зна-

чительное уменьшение содержания гликогена, РНК, суммарного белка при увеличении содержания липидов.

В качестве одной из основных причин гибели фагоцитированных микроорганизмов принято считать кислую среду в пищеварительных вакуолях, рН в которых равен 3,2—6,0. Причину этого усматривают в накоплении в пищеварительных вакуолях молочной кислоты, образующейся в результате гликолиза. Однако значение этого, по-видимому, не следует переоценивать, поскольку, по данным Looke и Rowley (1962), нет соответствия между скоростью гибели бактерий в пищеварительных вакуолях и чувствительностью этих бактерий к кислым значениям рН среды. Так, бактерии, гибнущие при рН 2,6 и выдерживающие рН около 5,0—6,0, погибают в пищеварительных вакуолях макрофагов с примерно одинаковой скоростью.

Таким образом, кислый рН среды в пищеварительных вакуолях, вероятно, сам по себе не может обеспечить гибель фагоцитированных микробов. Однако не исключено, что значение данного обстоятельства иное. Если исходить из концепции о лизосомах, которые содержат гидролазы с оптимумом действия в кислой среде, то можно допустить, что низкие значения рН в пищеварительных вакуолях способствуют проявлению активности ферментов, поступающих в пищеварительные вакуоли из лизосом.

Большое число наблюдений свидетельствует об изменении фагоцитарной активности клеток при различных физиологических и патологических изменениях состояния организма, под влиянием гуморальных и неврогенных воздействий. Из многочисленных наблюдений приведем лишь некоторые. Фагоцитоз эффективно стимулируется эстрогенными гормонами, причем есть прямая зависимость между активностью этих гормонов и их влиянием на фагоцитоз. Кортизон, как отмечено выше, в больших дозах угнетает переваривающую способность клеток, хотя, по-видимому, мало влияет на их поглотельную способность; в результате фагоцитоз происходит, но носит преимущественно незавершенный характер. Фагоцитоз стимулируется гистамином, а при авитаминозе А он, напротив, угнетается. Гипофизэктомия не вызывает изменения поглощательной активности макрофагов, но у гипофизэктомированных животных введение таких веществ, как зимозан, дистильбэстрол и эндотоксины некоторых бактерий, не усиливает поглощательную способность макрофагов, хотя эти вещества у контрольных животных эффективно стимулируют фагоцитоз. Такой эффект у гипофизэктомированных животных удается получить лишь в случае, если им одновременно вводят АКТГ или кортизон в определенных дозах. Удаление щитовидной железы приводит к угнетению фагоци-

тарной активности, а введение тироксина сопровождается противоположным эффектом.

По наблюдениям Н. В. Пучкова (1956), симпатин возбуждает, а ацетилхолин тормозит поглотительную активность лейкоцитов человека и лабораторных животных. Адреналин в небольшой дозе (менее $3 \cdot 10^{-6}$) стимулирует, а в большей дозе угнетает фагоцитоз.

Приведенные данные важны для понимания механизма регуляции фагоцитоза в целостном организме.

В процессе фагоцитоза в клетки могут поступать не только корпускулярные объекты (частицы), но и другие вещества, находящиеся в окружающей клетки среде. Так, в нейтрофильные лейкоциты морской свинки и человека вместе с фагоцитируемыми полистиреновыми частицами или взвесью *Amagantus cruentus* проникают малонат и флюоресцирующий гамма-глобулин. В отсутствие же фагоцитоза лейкоциты для обоих веществ почти не проницаемы (Sbarra, Shirley, Bardawil, 1962).

Пиноцитоз

Документируя с помощью цейтраферной микрокиносъемки рост и поведение макрофагов в культуре ткани, Lewis (1931) наблюдал периодическое захватывание указанными клетками капелек жидкости из окружающей их среды. Клетки как бы пили ее, вследствие чего наблюдаемый процесс был назван пиноцитозом (от греческого слова «пино» — пью). Одновременно Lewis обнаружил и описал пиноцитоз, осуществляемый фибробластами в культуре ткани большого сальника белых крыс и клетками культивируемой *in vitro* экспериментально вызванной саркомы.

Согласно наблюдениям Lewis, пиноцитоз макрофагами начинался с образования их ундулирующей мембраной выступов, несколько напоминающих псевдоподии. При продолжающихся активных движениях ундулирующей мембраны выбухания сближаются своими концами, все более отграничивая каплю находящейся между ними жидкости. Когда концы выбуханий смыкаются, капля жидкости оказывается заключенной в цитоплазме макрофага.

Ряд последующих исследований, а также проведенные электронномикроскопические наблюдения выявили существенную роль клеточной оболочки в процессе пиноцитоза. Оказалось, что поглощаемая капля жидкости окружается соответствующим участком клеточной оболочки. Сформировавшийся таким способом пиноцитозный пузырек, погружаясь, отделяется от клеточной оболочки, целостность которой

восстанавливается. Таким образом, стенка пиноцитозного пузырька образована частью клеточной оболочки.

У амёб, широко используемых для изучения пиноцитоза, наблюдается наряду с выше описанным и несколько иной способ поглощения жидкости: вначале в цитоплазме появляется воронкообразное углубление, напоминающее более или менее узкий каналец. Благодаря смыканию проксимальных концов каналца он превращается в пиноцитозный пузырек, отрывающийся от клеточной оболочки и переходящий в цитоплазму. Несмотря на некоторые различия в морфологии пиноцитоза и значительные колебания размеров пиноцитозных пузырьков в разных клетках, общая направленность процесса однотипна.

Помимо указанных выше клеток, пиноцитоз имеется также у трипанозом, у яйцеклеток некоторых животных, практически у всех клеток в культуре ткани. Менее определены данные о наличии пиноцитоза у высших растений. У ряда их отмечены изменения поверхности клеток, крайне напоминающие наблюдаемые при пиноцитозе. Однако это не может рассматриваться в качестве доказательства, так как аналогичные изменения поверхности клеток эндосперма *Pisum sativum* не сопровождаются пиноцитозом меченного флюорохромом белка и зависят исключительно от условий культивирования (Bradford, Chapman-Andresen, Jensen, 1964).

Прижизненное изучение пиноцитоза клетками в организме сопряжено с понятными трудностями. При витальномикроскопическом изучении свежееизготовленных срезов, клеточных суспензий и небольших кусочков тканей лабораторных животных пиноцитоз обнаружен только у клеток ретикулоэндотелиальной системы, кишечного эпителия, почечных каналцев и некоторых опухолей (Holter, 1959, 1960). Между тем при электронномикроскопическом исследовании инвагинации клеточных мембран с образованием пиноцитозных пузырьков найдены у значительно большего количества клеток, в том числе у эндотелия кровеносных капилляров (рис. 99). Последнее обстоятельство следует особо подчеркнуть, имея в виду значение обменных процессов через стенки кровеносных капилляров. Нужно также отметить, что размеры пиноцитозных пузырьков колеблются от нескольких микронов до 50 Å. Естественно, что мелкие пиноцитозные пузырьки (так называемый пиноцитоз на субмикроскопическом уровне) при указанных выше прижизненномикроскопических наблюдениях не могли быть обнаружены. Это заставляет с известной осторожностью относиться к результатам данных наблюдений, уже не говоря о том, что при использованной методике экспериментов клетки неизбежно альтерировались. При построении своей схемы ультраструктуры клетки Sie-

kewitz (1959) рассматривает пиноцитоз как универсальное явление. Вряд ли это может считаться в настоящее время вполне доказанным. Однако имеющиеся данные позволяют считать пиноцитоз весьма широко распространенным явлением, свойственным разнообразным клеткам. Согласно результатам электронномикроскопических наблюдений, которые



Рис. 99. Пиноцитозные пузырьки в цитоплазме эндотелиальной клетки кровеносного капилляра (по Kisch, 1960). Электроннограмма.

ВМ — базальная мембрана; *L* — просвет.

провел Kisch (1960), пиноцитозные пузырьки обнаружены во всех исследованных им клетках, исключая эритроциты.

В опытах на амебах было уделено значительное внимание влиянию на пиноцитоз различных факторов окружающей среды. Оказалось, что соли неорганических кислот, некоторые аминокислоты и белки (в том числе ряд ферментов) эффективно возбуждают пиноцитоз и интенсивно поглощаются клетками. Оптимальной для пиноцитоза оказалась концентрация солей в пределах 0,1 М, причем под влиянием разных катионов наблюдали некоторые вариации в морфологии пиноцитоза; анионы таким действием не обладают. Углеводы, в том числе глюкоза, и нуклеиновые кислоты не возбуждают пиноцитоз.

Однако в присутствии белка амебы начинают поглощать глюкозу, меченную по углероду. Таким образом, вещество,

возбуждающее пиноцитоз (в данном случае белок), может вызывать пиноцитоз другого вещества (глюкозы), которое само по себе клетками не поглощается. Но не все белки стимулируют пиноцитоз. Так, например, РНК-аза активно пиноцитируется клетками в отличие от ДНК-азы. Причины данного различия не выяснены. Однако несомненно, что возбудителями пиноцитоза являются только полярные (т. е. несущие на себе электрический заряд) молекулы и ионы (А. В. Зеленин, 1962). Между индукцией пиноцитоза и осмотическим давлением раствора соли или белка нет прямой зависимости. Из числа белковых веществ особенно эффективно возбуждают пиноцитоз у амеб гамма-глобулин и желатина. При люминесцентномикроскопическом исследовании весьма отчетливо выявляется пиноцитоз клетками белка, меченного флюорохромом.

Вопрос о влиянии рН среды на интенсивность пиноцитоза остается спорным. С одной стороны, имеются указания на то, что пиноцитоз белкового раствора клетками асцитной опухоли Эрлиха при рН 5,9—6,3 более интенсивен, чем при рН 6,75. Однако на амебах при колебаниях рН от 6,5 до 8,0 такая зависимость в опытах с использованием поваренной соли не установлена.

Во всех этих экспериментах подтверждены первоначальные наблюдения Lewis о прерывистом характере пиноцитоза с поступлением жидкости в клетки не непрерывно, а с большими или меньшими промежутками.

Вместе с тем приведенные выше данные о возможности проникновения путем пиноцитоза в клетки белков заставили пересмотреть вопрос о сущности данного процесса. Стало ясным, что пиноцитоз не может быть сведен лишь к поступлению в клетки больших или меньших количеств жидкости, которая может проникнуть в клетки непосредственно через ее оболочку. Большое значение пиноцитоза стали усматривать в том, что он может обеспечить поступление в клетки крупномолекулярных веществ¹.

¹ Вопреки широко распространенному мнению о значении пиноцитоза для поступления в клетки крупномолекулярных белковых веществ, Woodin (1963) высказывает сомнение в достаточной обоснованности данного заключения применительно к клеткам млекопитающих. Woodin исходит из того, что проникновение белков путем пиноцитоза установлено в опытах на амебах, антитела же, меченные ферритином, хорошо адсорбируются на поверхности клеток асцитной опухоли Кребса, но интенсивность пиноцитоза при этом не возрастает. Однако данные наблюдения, на которые ссылается Woodin, не подтверждены более поздними исследованиями, показавшими, что интенсивность пиноцитоза опухолевыми клетками белков сыворотки, меченных ферритином, значительно возрастает при увеличении концентрации в среде сыворотки (Caulfield, 1963). Таким образом, согласно приведенным данным, белки сыворотки индуцируют пиноцитоз в клетках опухолей аналогично тому, что наблюдается у амеб.

Пиноцитоз, по-видимому, имеет определенное значение для осуществления обменных процессов, совершающихся через стенку кровеносных капилляров. Так, по данным электронно-микроскопического исследования Kisch (1960), пиноцитозные пузырьки диаметром от 10 до 1000 Å видны не только в эндотелии кровеносных капилляров сердца, но и в межклеточных промежутках, а также под сарколеммой мышечных волокон. Указанная локализация пиноцитозных пузырьков как бы маркирует путь веществ, поступающих из крови в толщу тканей.

В принципе аналогичный вывод о значении пиноцитоза вытекает и из результатов наблюдений, показавших, что при инъекции раствора коллоидального золота в брюшную полость жабы частички золота появляются в пиноцитозных пузырьках мезотелия уже через 2 минуты после инъекции. Если же коллоидный раствор был введен в задний лимфатический мешок, то золото обнаруживалось в мезотелии через 10—30 минут. Различия в скорости появления коллоидного раствора в пиноцитозных пузырьках цитоплазмы мезотелия объясняли тем, что в первом случае оно непосредственно поступало в мезотелий, а во втором — транспортировалось более длинным путем. У амёб описан и противоположный пиноцитозу по направленности процесс в виде так называемой вакуолярной разгрузки клеточного материала.

Скорость пиноцитоза тех или иных субстанций разными клетками значительно варьирует. Согласно Caulfield (1963), инвагинации клеточной оболочки появляются, по данным электронно-микроскопического исследования, уже через 30 минут после внесения в культуру опухолевых клеток Эрлиха белка, меченного ферритином. Еще через 30 минут многочисленные пиноцитозные пузырьки располагаются в цитоплазме вне связи с клеточной оболочкой.

Количество жидкости, поступающее в клетки путем пиноцитоза, было определено разными исследователями неодинаковыми методами и на различных объектах. Lewis на основании подсчета размеров и числа пиноцитозных пузырьков считал, что за 1 час в культуре ткани макрофаги могут поглощать такое количество жидкости, которое равно приблизительно $\frac{1}{3}$ их объема. Согласно наблюдениям Holter и Mag-schall (1954), амёбы могут поглотить данный объем жидкости за 3 часа. Однако позднее Charpen-Andresen и Holter (1955), исследуя поглощение амёбами радиоактивной глюкозы в присутствии бычьего альбумина, нашли, что объем поглощаемой жидкости не превышает 10% первоначального объема. Хотя приведенные цифры неодинаковы, однако они свидетельствуют о большой активности пиноцитоза (С. С. Лагучев и др., 1962).

При определении на срезах суммарной площади, занимаемой пиноцитозными пузырьками, по отношению к общей площади цитоплазмы на том же срезе было подсчитано, что в ряде растительных клеток общий объем пиноцитозных пузырьков составляет около 12% объема клетки.

МЕХАНИЗМ ПИНОЦИТОЗА

Согласно представлениям Brandt (1958), первая стадия пиноцитоза состоит в адсорбции поглощаемых веществ на поверхности клеточной оболочки. В пользу представления о первой фазе пиноцитоза как фазе простой адсорбции свидетельствует, в частности, то, что в первые 5 минут наблюдения скорость поглощения рибонуклеазы и цитохрома М, меченных радиоактивным йодом, не тормозится рядом агентов, ингибирующих обменные процессы.

Адсорбция заряженных частиц на поверхности клетки вызывает понижение поверхностного натяжения клеточной оболочки, признаком чего служит ее мелкоскладчатое сморщивание амеб. Благодаря указанным локальным изменениям соответствующие участки клеточной оболочки инвагинируются, постепенно формируя пиноцитозные пузырьки. Этот процесс следует считать активным в биохимическом смысле, поскольку он тормозится ингибиторами метаболических реакций, зависит от температуры и рН среды.

Располагаясь вначале в самых периферических слоях цитоплазмы, пиноцитозные пузырьки перемещаются затем в направлении околядерной зоны; при этом они обычно несколько сморщиваются. Дегидратация пиноцитозных пузырьков по мере их погружения в толщу цитоплазмы подтверждена и путем ультрацентрифугирования. Этим методом установлено, что плотность пиноцитозных пузырьков, идентифицируемых по радиоактивной метке, со временем возрастает. Вместе с тем наблюдается и слияние мелких пиноцитозных пузырьков в более крупные в глубоких слоях цитоплазмы.

Дальнейшая судьба веществ, проникших в клетки путем пиноцитоза, изучена недостаточно. Установлено, что у амеб эти вещества первое время остаются в пиноцитозных вакуолях; о продолжительности указанной фазы имеются лишь единичные наблюдения. Согласно данным Holter и Marschall (1954), меченные флюорохромом белки видны в пиноцитозных пузырьках 5—6 дней, после чего пузырьки перестают светиться.

Charpen-Andresen и Holter (1955) показали, что радиоактивная глюкоза, пиноцитированная амебами в присутствии белка, сравнительно быстро мобилизуется клетками, так как

радиоактивная метка обнаруживается в выдыхаемом углекислом газе уже через несколько часов после начала опыта. Параллельно проведенная автордиография показала, что радиоактивная глюкоза или какое-то радиоактивное вещество, получившееся после распада глюкозы, обнаруживается в цитоплазме вне пиноцитозных пузырьков уже через 3½ часа после начала опыта. Вместе с тем часть радиоактивности находится в клетках на протяжении 124 часов, т. е. задерживается в них на относительно продолжительный срок.

Полученные данные устанавливают в принципе возможность утилизации клеткой веществ, поглощенных путем пиноцитоза. Однако остается недостаточно выясненным, проникают ли вещества из пиноцитозных вакуолей в цитоплазму после того, как они подвергнутся в указанных вакуолях какому-либо превращению, или последнее произойдет уже в цитоплазме.

На основании электронномикроскопических данных о наблюдаемом иногда тесном контакте между пиноцитозными пузырьками и митохондриями было высказано предположение, что мембраны пузырьков становятся проницаемыми для их содержимого под влиянием энзимов митохондрий. Однако этих наблюдений явно недостаточно для решения вопроса, и он, несомненно, подлежит дальнейшему изучению с учетом новых сведений о распределении энзимов между митохондриями и лизосомами и о функциональном значении последних.

На клетках HeLa методом микрокиносъемки было показано, что пиноцитозные вакуоли могут сливаться с цитоплазматическими гранулами, так называемыми микрокинетосферами. После этого показатель лучепреломления пиноцитозных пузырьков изменяется, что свидетельствует о каком-то изменении их содержимого. Предполагают идентичность «микрокинетосфер» лизосомам, что, однако, не подкреплено достаточным фактическим материалом.

Более убедительными в этом отношении являются результаты наблюдений Straus (1962, 1964), использовавшего в своих опытах пероксидазу хрена, которую он вводил подопытным животным парентерально. Пероксидаза хрена, подобно другим белковым веществам, легко поглощается клетками путем пиноцитоза и хорошо выявляется в клетках при последующей обработке бензидином. Оказалось, что проникшие в клетки печени и почек капельки пероксидазы хрена вскоре сливаются с лизосомами, опознаваемыми по содержанию в них кислой фосфатазы. В дальнейшем реакция на пероксидазу становится отрицательной, что свидетельствует о произошедшем расщеплении указанного вещества под влиянием ферментов лизосом.

При решении вопроса о дальнейшей судьбе веществ в пиноцитозных пузырьках не следует забывать, что мембраны этих пузырьков образованы отделившимися участками клеточной мембраны; последняя же содержит некоторые ферменты (см. главу VIII). Не лишено оснований предположение, что эти ферменты могут влиять на состав веществ, содержащихся в пиноцитозных пузырьках.

В последних при сочетании гистохимическом и электронномикроскопическом изучении обнаружен фермент, гидролизующий АТФ, АДФ и аденозинмонофосфат (Raghesi, Baggett, 1963). Дальнейшее развитие таких комплексных исследований, вероятно, может пролить дополнительный свет на вопрос о судьбе содержимого пиноцитозных пузырьков. Полученные же до настоящего времени данные в определенной мере подкрепляют воззрение о возможных биохимических превращениях содержимого этих образований.

При электронномикроскопическом изучении амеб наблюдали отшнуровку от пиноцитозных пузырьков более мелких вакуолей (так называемый вторичный пиноцитоз). Дальнейшая судьба таких мелких вакуолей пока не выяснена, как и функциональное значение их образования.

Нерешенность приведенных выше вопросов затрудняет суждение о сходстве и различиях между пиноцитозом и фагоцитозом. Электронномикроскопически механизм проникновения в клетки веществ путем обоих сопоставляемых процессов в значительной мере сходен (образование инвагинации, смыкание краев клеточной оболочки друг с другом при погружении поглощаемого вещества внутрь цитоплазмы, последующее восстановление целостности клеточной оболочки и пр.). Ингибиторы гликолиза в равной мере угнетают и фагоцитоз, и пиноцитоз (Kagnovsky и др., 1964). Ввиду этого ряд исследователей подчеркивает сходство между фагоцитозом и пиноцитозом, усматривая различия между ними лишь в характере поглощаемых веществ.

Policard и Bessis (1959) считают, что есть все переходные стадии между пиноцитозом и фагоцитозом. Отмечая сходство обоих процессов, А. Новиков (1963) предлагает объединить их общим термином «цитоз», чтобы подчеркнуть отличие от процессов непрерывного поступления веществ в клетки путем диффузии через клеточную оболочку. В свою очередь цитоз подразделяют на эндоцитоз и экзоцитоз, причем под эндоцитозом подразумевают поступление суспендированных или коллоидальных веществ внутрь клеток, а под экзоцитозом — процесс с противоположной направленностью.

Мнение о целесообразности объединения фагоцитоза и пиноцитоза общим термином «цитоз» не лишено оснований. Однако, учитывая отмеченную выше нерешенность вопроса

о судьбе пиноцитированных клеткой веществ, мы полагаем пока нецелесообразным объединять пиноцитоз и фагоцитоз общим термином. Это нецелесообразно и ввиду того, что способность разных клеток к пиноцитозу и фагоцитозу может быть различной. Так, например, эндотелиальные клетки кровеносных капилляров, лишенные фагоцитарной активности, обладают, согласно отмеченным выше электронномикроскопическим наблюдениям, выраженной способностью к пиноцитозу. Использование собирательного термина «цитоз» нивелировало бы эти различия.

Как уже отмечено выше, путем пиноцитоза в клетки проникают разнообразные белковые вещества, в том числе и пероксидаза хрена, широко использованная в опытах Straus. Внутриклеточные образования, содержащие пероксидазу хрена, предварительно парентерально введенную подопытным животным, Straus выделил в особую категорию внутриклеточных образований, так называемых фагосом. Однако, учитывая упомянутые данные о способе поступления белковых веществ в клетки, кажется правильнее рассматривать фагосомы не как особый вид включений, а как своеобразную категорию пиноцитозных пузырьков, причем их своеобразие определяется лишь характером поглощенного клетками вещества, т. е. пероксидазы хрена¹. Сходное мнение высказал и сам Straus (1962), допускающий вместе с тем участие секреторных процессов в формировании фагосом.

В экспериментальной гистологии в свое время большое внимание уделялось изучению процесса «накопления» (Speicherung) клетками разнообразных веществ на примере растворов таких красителей, как трипановый синий, красное конго, краситель Т-1824 и др. Однако в настоящее время известно, что после введения в организм трипановый синий и краситель Т-1824 адсорбируются на белке, вместе с которым они и проникают в клетки. Есть основания полагать, что так же обстоит вопрос и в отношении красного конго.

По мнению Б. В. Кедровского (1945), коллоидальные краски, как и ряд других веществ (холестерин, билирубин и др.), поглощаются макрофагами только после их адсорбции на белковых молекулах плазмы крови с образованием соответствующих комплексных адсорбционных соединений. Именно эти соединения, а не молекулы красителя в чистом виде, поступают затем в клетки. Учитывая это, следует признать процесс «накопления» принципиально однотипным пиноцитозу.

¹ Изложенное ни в какой мере не умаляет интереса изучения фагосом. Напротив, весьма вероятно, что благодаря доступности их обнаружения, дальнейшее изучение фагосом облегчит выяснение вопроса о судьбе содержимого пиноцитозных пузырьков.

Имея в виду данные о физиологическом значении пиноцитоза, мы не считаем необходимым сохранять такие термины, как «ультрафагоцитоз» или «коллоидопексия», под которыми подразумевается поглощение клетками коллоидных частиц. Поскольку их проникновение в клетки осуществляется путем пиноцитоза, использование обоих терминов представляется излишним.

ЛИТЕРАТУРА

- Адо А. Д. Патология фагоцитов. М., 1961.
Адо А. Д. Фагоцитоз. В кн.: Патологическая физиология. М., 1957, 118—122.
Брауде А. И., Брауде Н. И., Завенягина Е. А. ДАН СССР, 1962, 145, 3, 677—680.
Брауде А. И. ДАН СССР, 1964, 155, 5, 1188—1192.
Выгодчиков Г. В. и Мануйлова Н. Журн. эксп. биол. и мед., 1929, 12, 197—205.
Зеленин А. В. Успехи совр. биол., 1962, 53, 3, 364—374.
Иваницкая А. Ф. ДАН СССР, 1950, 74, 3, 607—610.
Лагучев С. С., Машинская В. Н., Орлова И. И., Залетаева Т. А., Будик В. М. Цитология, 1962, 4, 4, 381—390.
Новиков А. Лизосомы и родственные им гранулы. В кн.: Функциональная морфология клетки. ИЛ, М., 1963, 113—153.
Планельес Х. Х. Фагоцитоз. БМЭ, 1963, 33, 428—435.
Покровская М. П., Гуторова Н. М., Краскина Н. А., Макаренко И. Г., Брауде Н. И. Труды XIII Всесоюзного съезда гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов. М., 1959, 122—125.
Пучков Н. В. Биохимия, 1955, 20, 6, 709—713.
Пучков Н. В. Фагоцитоз и нервная система. В кн.: Современные вопросы общей патологии и медицины. М., 1956, 173—210.
Холтер Х. Пиноцитоз. В кн.: Функциональная биохимия клеточных структур. М., 1962, 263—271.
- Auzins J. a. Rowley D. Austr. J. exp. Biol. Med. Sci., 1963, 41, 5, 539—546.
Brandt P. W. Exptl. Cell Res., 1958, 15, 2, 300—313.
Bona C. et Mesrobianu L. Arch. roumain path. exp. microbiol., 1963, 22, 4, 1031—1038.
Bradfute O., Chapmen-Andresen C., Jensen W. Exptl. Cell Res., 1964, 1, 207—211.
Brewer D. B. J. Path. Bact., 1963, 86, 2, 299—303.
Caulfield J. B. Lab. Invest., 1963, 12, 10, 1018—1025.
Chapmen-Andresen C., Holter H. Exp. Cell Res., 1955, 3, 520—563.
Cohn Z. A., Hirsch J. C. J. exp. Med., 1960, 112, 6, 983—1014.
Cohn Z. A., Hirsch J. C. J. exp. Med., 1960, 112, 6, 1015—1024.
Cohn Z. A. J. exp. Med., 1963, 117, 1, 27—68.
Cohn Z. A. a. Wiener E. J. exp. Med., 1963, 118, 6, 991—1008; 1008—1020.
Essner E. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1960, 7, 2, 329—333.
Goodman J. R. a. Moore R. E. J. Bacteriol., 1956, 71, 5, 547—556.
Holter H., Marschall J. M. Compt. rend. trav. Laborat. Carlsberg. Ser. chim., 1954, 29, 1, 7—26.

- Holter T. Intern. Rev. Cytol., 1959, 8, 481—504.
- Holter T. Pinocytosis. X Congr. intern. biol. cell. Paris, 1960, 67—68.
- Karnovsky M. L. Physiol. Rev., 1962, 42, 1, 143—168.
- Karnovsky M. L., Shafer A., Saito K. Pinocytosis and phagocytosis. VI Intern. Congress biochem. Abstracts. 1964, 655.
- Karrer H. E. J. Biophys., Biochem. Cytol., 1960, 7, 2, 357—365.
- Kisch B. Exp. Med. Surg., 1960, 18, 3, 182—192.
- Lewis W. Bull. Johns Hopkins Hospital, 1931, 49, 1, 17—23.
- Lewis W. Am. J. Cancer., 1937, 29, 4, 666—679.
- Looke E. a. Rowley D. Austr. J. exp. Biol. Med. Sci., 1962, 40, 4, 315—322.
- Oren R., Farnham A., Saito K., Milofsky E., Karnovsky M. L. Cell. Biol., 1963, 17, 3, 487—501.
- Policard A. et Bessis M. Rev. franc. études clin. biol., 1959, 4, 8, 839—845.
- Ponder E. Protoplasma, 1928, 3, 4, 611—632.
- Rarchesi V. T. a. Barnett R. J. J. Cell Biol., 1963, 17, 3, 547—556.
- Rumbler L. Arch. Rut. Mech., 1910, 301.
- Sbarra A., Shirley W., Bardawil W. Nature, 1962, 194, 4825, 255—256.
- Siekewitz Ph. Cell structure and metabolic regulation. Ciba Foundation Symposium on the regulation of cell metabolism. Churchill, London, 1959, 17—45.
- Straus W. Exp. Cell Res., 1962, 27, 1; 80—93.
- Straus W. J. Cell. Biol., 1964, 20, 3, 497—507.
- Törö I., Ruzsa P., Röhlich P. Exp. Cell Res., 1962, 26, 3, 601—603.
- Whitby J. L., Michael J. G. et al. Bacteriol. Rev., 1961, 25, 4, 437—451.
- Woodin A. M. The passage of proteins and particles across the surface of cells. B VII: The structure and function of the membranes and surfaces of cells. Cambridge, 1963, 126—141.
- Zucker-Franklin D., Hirsch J. J. exp. Med., 1964, 120, 4, 569—576.

XIII

ДВИЖЕНИЕ КЛЕТКИ

В этой главе рассматриваются три вида движения: амебоидное, ресничное и мышечное.

Амебоидное движение

Данный вид движения широко распространен среди животных клеток. С помощью амебоидного движения перемещаются не только амебы, у которых этот вид движения особенно удобно наблюдать, но и лейкоциты, эмигрирующие из кровеносных сосудов в очаги воспаления, перемещающиеся в такие очаги макрофаги, клетки эпителия, наползающие на поверхность регенерирующей раны из соседних с ней участков, и др. Амебоидное движение наблюдается и при эксплантации в тканевые культуры эпителиальных и мезенхимных клеток. Такие клетки активно перемещаются с помощью указанного движения в зону миграции, при этом клетки предварительно претерпевают иногда определенные изменения. Так, например, амебоидному перемещению эпителиальных клеток предшествует исчезновение на их боковых поверхностях десмосом.

С помощью амебоидного движения амебы могут перемещаться в одну секунду на расстояние от 0,5 до 5 μ . Скорость перемещения лейкоцитов аксолотля равна 33—40 μ в минуту, нейтрофильных лейкоцитов человека — 45—50 μ , лимфоцитов — 4—30 μ , а эозинофилов 1,5—9 μ в минуту. Таким образом, скорость амебоидного движения разных клеток весьма неодинакова. Помимо того, она зависит и от ряда факторов окружающей среды (температуры, света, ультрафиолетового излучения, осмотического давления, механического давления, наличия в среде ионов кальция, без которых амебоидные движения прекращаются, и пр.).

Амебоидные движения обычно осуществляются путем образования клетками псевдоподий; однако контуры некоторых амеб при движении не изменяются. Поэтому к амебоидному движению предложено относить все виды движения, связанные с течением протоплазмы клеток (Аллен, 1964, Л. Н. Серавин, 1964).

Вопрос о механизме амебоидных движений разрабатывается на протяжении уже 100 лет. Во второй половине прошлого и в начале нынешнего века основную причину образования псевдоподий усматривали в изменениях поверхностного натяжения амеб и других клеток, способных к амебоидному движению. Основанием для данного представления явились результаты модельных опытов. Они показали, что под влиянием поверхностно-активных веществ капли масла или ртути изменяют свою форму наподобие движущейся амебы. Так, например, при внесении смеси растительного масла и хлороформа в водный раствор соды омыление масла содой приводит к снижению поверхностного натяжения на границе капля — вода, а в результате этого к образованию на поверхности капли выступов, напоминающих псевдоподии. Вместе с тем в самой капле отмечалось перемещение жидкости в направлении от центра к периферии. Затем такая порция жидкости распространяется по периферическому слою капли и, наконец, перемещается к ее центру. Подобный тип движения жидкости обозначен как «фонтанный».

Наблюдения за смещением протоплазмы движущейся амебы показали, однако, что «фонтанное» движение встречается лишь у немногих типов амеб; у большинства их, как и у лейкоцитов человека и высших животных, «фонтанное» движение отсутствует и наблюдаются иные типы движения. Было установлено также, что пресноводные амебы, помещенные на границу двух неомешивающихся жидкостей, не образуют псевдоподий. Пресноводные амебы не деформируются также под влиянием веществ, изменяющих поверхностное натяжение. Поэтому его изменения сами по себе не могут объяснить причин формирования псевдоподий.

Под влиянием веществ, изменяющих поверхностное натяжение, псевдоподии образуются лишь в том случае, если поверхностный слой протоплазмы амёб предварительно подвергся разжижению. Совокупность сделанных наблюдений позволила заключить, что изменения поверхностного натяжения не представляют основного фактора, определяющего механизм амёбоидных движений. Участие сил поверхностного натяжения имеет, по-видимому, лишь вспомогательное значение (А. Д. Адо, 1961).

Накопленный фактический материал (в том числе и указанные выше наблюдения о необходимости предварительного разжижения поверхностного слоя протоплазмы для формирования псевдоподий) выдвинул на первый план значение физико-химического состояния протоплазмы амёбовидно перемещающихся клеток. Экспериментальная разработка данного вопроса привела к представлению, что для осуществления амёбоидного движения большое значение имеет обратимый процесс желатинизации протоплазмы с переходом ее порций то из состояния геля в золь, то из золя в гель. Согласно данному представлению, механизм образования псевдоподий в общем виде является следующим.

У амёб наружный слой протоплазмы образован гомогенной эктоплазмой, находящейся в состоянии геля. Внутри от него расположена гранулярная эндоплазма, большая часть которой находится в состоянии золя. При образовании псевдоподии гель эктоплазмы в данном участке разжижается, что сопровождается понижением здесь поверхностного натяжения. Сюда перетекает часть эндоплазмы из противоположного (заднего) участка амёбы. Проникший в передний конец амёбы поток эндоплазмы расширяет псевдоподию, а затем желатинизируется. Подобные процессы повторяются затем на переднем (по отношению к направлению движения) конце образовавшейся псевдоподии, вследствие чего ее размеры увеличиваются. На заднем же конце эктоплазма разжижается, пополняя, таким образом, массу перемещающейся впереди эндоплазмы. Весь процесс многократно повторяется, причем передний конец все время пополняется притекающими сюда порциями разжиженной протоплазмы, а вещество заднего конца все более редуцируется, переходя из состояния геля в золь, перетекающий впереди. Весьма схематично амёбоидное движение можно представить как результат тока эндоплазмы через своеобразный «тоннель», образованный эктоплазматическим гелем (Mast, 1931).

Некоторым подтверждением изложенной концепции могут служить опыты, в которых амёб подвергали воздействию высокого давления или низкой температуры. Это вызывало разжижение протоплазмы амёб на всем протяжении их кле-

точного тела, в силу чего локальные изменения физико-химического состояния протоплазмы с чередованием превращения геля в золь уже не могли происходить. Одновременно у таких амёб прекращались и движения. Они восстанавливались по устранению действия повышенного давления или низкой температуры, что приводило к восстановлению исходного физико-химического состояния протоплазмы (Landau, Zimmetman, Marsland, 1954). Допускают, что желатинизация цитоплазмы в определенной мере зависит от содержания в клетке АТФ.

Обратимые изменения процесса желатинизации наблюдаются не только у амёб, но и у других клеток, способных к амёбоидному движению, в частности у лейкоцитов. У них различают переднюю зону псевдоподий, которая весьма подвижна и состоит из плазмозоля, и заднюю, плотную и желатинизированную. Во время передвижения лейкоцита боковая часть переднего плазмозоля желатинизируется (De Bruyn, 1947).

В основе процесса желатинизации, согласно Goldacre (1952), лежит изменение конфигурации белковых молекул. При этом в желатинизированных участках полипептидные цепочки разворачиваются, образуя переплетающиеся друг с другом нити. При возникновении золя указанные цепочки приобретают глобулярную конфигурацию. По мнению данного автора, продвижение находящейся в состоянии золя порции эндоплазмы обусловлено сокращением кортикального геля на заднем конце передвигающейся амёбы.

Однако имеются данные, что продвижение эндоплазмы происходит под влиянием сокращения геля на переднем конце амёб в зоне так называемого фонтана: порция находящейся здесь эндоплазмы веерообразно отбрасывается в стороны (рис. 100). Одновременно эндоплазма сокращается (так называемое фронтальное сокращение), благодаря чему на переднем конце амёбы освобождается вода. Она передвигается назад и разжижает эктоплазму на заднем конце в «зоне восстановления». Вследствие этого разжиженная эктоплазма превращается в эндоплазму (Аллен, 1964).

Обе концепции: Мэста — Голдэйкра и Аллена — встречают известные возражения. Одно из них состоит в том, что у *A. proteus* в присутствии комплекса оксин-железо движения начинаются в одних случаях на заднем, а в других — на переднем конце. Поэтому у *A. proteus* вероятно наличие не одного, а двух движущих механизмов — переднего и заднего. Не исключено, что степень их участия в амёбоидном движении у разных объектов неодинакова (Л. Н. Серавин, 1964). Кроме того, амёб, классический объект для изучения амёбоидного движения, нельзя рассматривать в качестве

простого мешочка, заполненного разжиженной эндоплазмой. У ряда амеб и особенно у *A. striata*, помимо поверхностного плазматического геля, имеются еще и поперечные гелевые тяжи, пересекающие жидкую эндоплазму. Эти тяжи в совокупности образуют динамическую структуру, разрушающуюся на зад-

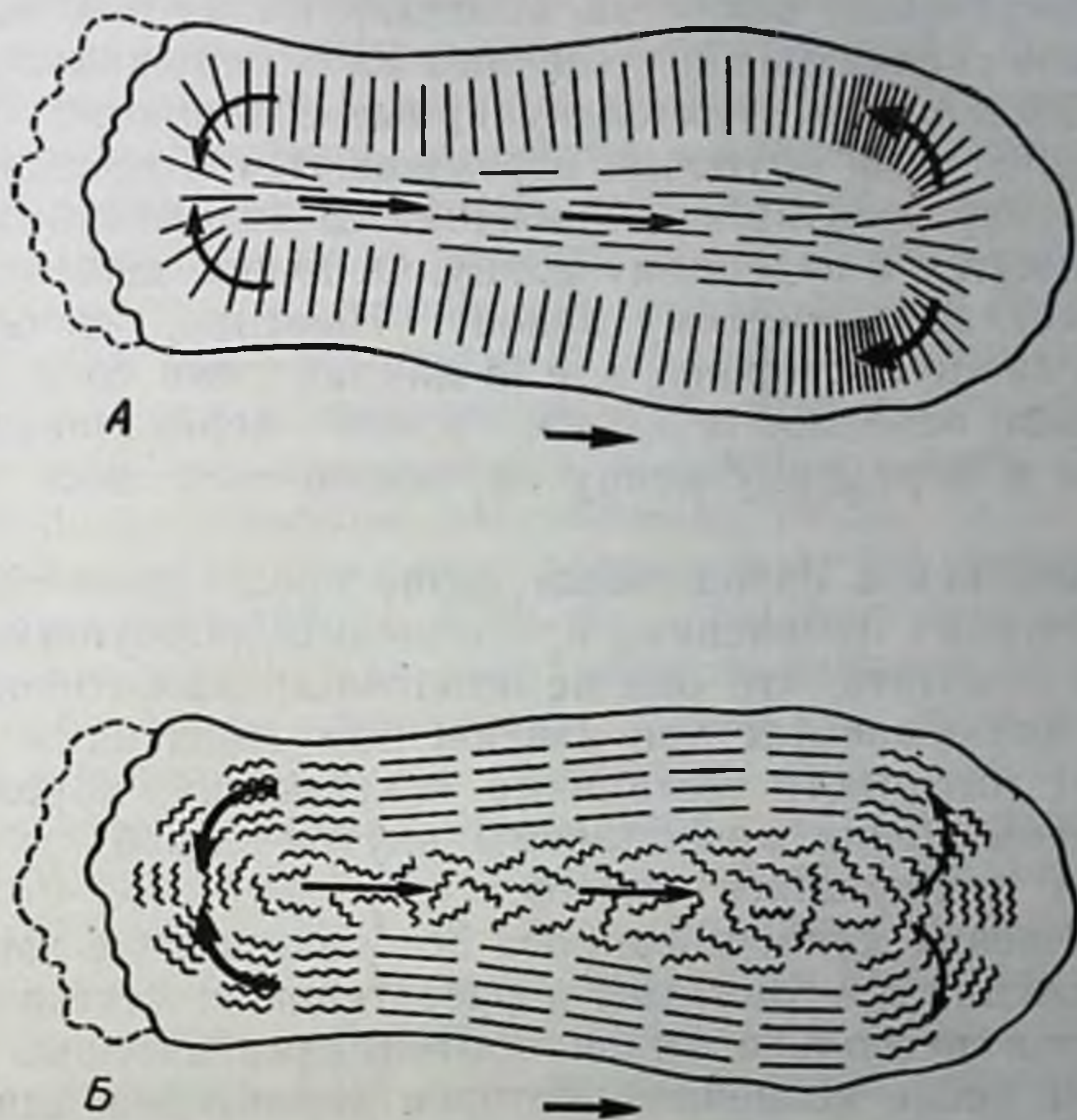


Рис. 100. Схематическое изображение тока эндоплазмы в перемещающейся амебе. Согласно схеме А, сокращение кортикального геля на переднем конце клетки вызывает перемещение кпереди эндоплазмы. Согласно схеме Б — перемещение эндоплазмы вперед обусловлено сокращением кортикального геля на заднем конце амебы (по Камия, 1962).

нем конце и образующуюся на переднем. По сложности структурной организации амеб можно расположить в ряд, на одном конце которого *A. striata*, а на противоположном — *A. proteus* (Abé, 1961, 1962). В протоплазме амеб *Chaos chaos* электронномикроскопически выявлены фибриллы и пучки фибрилл, ориентированные в разных направлениях.

Внутренняя организация должна, по-видимому, иметь еще большее значение для амебоидного движения клеток, обладающих сложным строением протоплазмы (макрофаги, лейкоциты и пр.). Что касается амеб, то в теле их пока обнаружено лишь очень ограниченное количество элементов

эндоплазматической сети. Это служит серьезным возражением против гипотезы Каванау (1963), рассматривающего разрозненные микротрубочки в качестве морфологической основы движения протоплазмы. Согласно представлениям указанного автора, трубочки поглощают из цитоплазмы низкомолекулярные вещества, синтезируют из них высокомолекулярные соединения и выделяют их в окружающую цитоплазму. Выделяя высокомолекулярные соединения в одном направлении, сами трубочки перемещаются в противоположном — по типу реактивного движения. В эндоплазме все трубочки движутся к переднему концу. Основное вещество цитоплазмы, согласно третьему закону Ньютона, движется в противоположную сторону, т. е. в направлении «спереди — назад». Жидкое основное вещество затем перекачивается по трубочкам к переднему концу и изливается под плазмалемму.

Возвращаясь к изложенным выше представлениям о физико-химических изменениях протоплазмы движущихся амёб, нельзя не отметить, что они не объясняют всей совокупности явлений, наблюдаемых при амёбоидном движении. Они не вскрывают интимного механизма сокращения, обуславливающего перемещение протоплазмы внутри амёб и других амёбоидно движущихся клеток.

Для решения данного вопроса особое значение имеет изучение движения протоплазмы в растительных клетках. У них наблюдается несколько видов протоплазматического движения, в том числе челночное, которое характерно для протоплазмы в плазмодии миксомицетов (слизевиков — группа простейших грибов).

При челночном движении протоплазма попеременно движется то в одном, то в другом направлении, причем ток движущейся протоплазмы приводит к изменению формы миксомицета с образованием подобия псевдоподий. Поэтому челночное движение в известной мере сходно с амёбоидным. Вместе с тем элементы челночного движения напоминают другие типы протоплазматического движения в растительных клетках, причем все типы этих движений связаны между собой множеством переходных форм.

Имея это в виду, следует считать, что амёбоидное движение не составляет совершенно обособленной категории движения. Напротив, оно представляет форму более общего явления, широко распространенного в природе.

Для изучения челночного движения миксомицетов Каміуа (1942) предложил так называемый метод двойной камеры, основанный на применении прибора, состоящего из двух камер, разделенных общей перегородкой, имеющей в центре небольшое отверстие. В каждую из камер помещают по кап-

ле протоплазмы миксомицета. Обе капли соединяются между собой протоплазматическим тяжом, проходящим через отверстие в междукамерной перегородке. Эндоплазма движется назад и вперед между обеими камерами по соединительному тяжу, который представляет как бы капилляр со стенками из плазмогеля. Для остановки челночного движения, т. е. для прекращения перетекания протоплазмы миксомицета из одной камеры прибора в другую, требуется определенное давление, величина которого характеризует движущую силу протоплазмы миксомицета. Опыты показали, что движущая сила протоплазмы миксомицета значительно возрастает под влиянием определенной концентрации АТФ ($2 \cdot 10^{-3}$ М). Аналогичный эффект дает и микроинъекция раствора той же концентрации АТФ непосредственно в каплю протоплазмы, находящейся в одной из двух камер использованного прибора (Н. Камия, 1962).

В принципе аналогичные данные получил Kuroda (1958), исследовавший влияние АТФ на движения отдельных фрагментов, полученных при разрезании плазмодия миксомицета. Такие фрагменты совершают сложные, неупорядоченные движения с определенной скоростью. Под влиянием АТФ скорость этих движений изменяется, и при концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ М она возрастает почти в 2 раза; в большей концентрации ($2,5 \cdot 10^{-3}$ М) АТФ такого действия не оказывает, а в концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ М даже замедляет движения.

На основании полученных данных Н. Камия заключил о важном значении АТФ для осуществления челночного движения протоплазмы миксомицета, причем это обстоятельство подчеркивается наличием АТФ в физиологических условиях в протоплазме миксомицетов. Концентрация такого эндогенного АТФ — порядка $0,4 \cdot 10^{-3}$ М в общем соответствует концентрации экзогенного АТФ, вызывающего усиление протоплазматических движений миксомицетов. АТФ, выделенный из миксомицетов, оказывает на мышцу такое же действие, как и АТФ из мышц. Таким образом, из миксомицета может быть получен «истинный АТФ» (Takeuchi, Hatano, 1956).

В связи с этим следует указать, что инъекция слабых растворов АТФ в протоплазму амёб вызывает разжижение протоплазмы и усиление амебоидных движений (Kriszat, 1954). Это подчеркивает единый механизм челночного и амебоидного движений. Наконец, согласно Н. Камия, прямым подтверждением предположения о роли АТФ в качестве источника движения протоплазмы служат опыты Goldacre и Logch (1950), показавших, что протоплазма *Amoeba discoides* движется после интрапротоплазматической инъекции АТФ в направлении от места инъекции. Обработанная гли-

церинном амеба начинает сокращаться под влиянием АТФ и ионов магния (Simard-Duquesne, Couillard, 1962). Из протоплазмы миксомицета выделен белок, который реагирует на добавление АТФ сокращением, подобно актомиозину (Loewy, 1952). Этот белок напоминает актомиозин и по ряду других свойств. Учитывая сходство с актомиозином и получение из миксомицетов, его предложили называть миксомиозином (Tsó, Eggman, Vinograd, 1957).

На основании приведенных данных сформулировано представление, что амебоидное движение, подобно челночному движению протоплазмы миксомицетов и другим видам движения протоплазмы в растительных клетках, основано на механизме, сходном с сокращением мышечных волокон: в протоплазме содержится актомиозиноподобный белок (миксомиозин в миксомицетах), сокращения которого под влиянием АТФ вызывают перемещения эндоплазмы. Это и служит причиной ее поступления в псевдоподии в ходе амебоидного движения.

При изучении влияния различных веществ на движения протоплазмы миксомицетов установлено, что ингибиторы гликолиза, интенсивнее влияют на протоплазматическое движение, чем ингибиторы кислородного дыхания. Поэтому следует считать, что энергетическое обеспечение челночного движения осуществляется за счет гликолиза, хотя и гликолиз, и кислородное дыхание являются способом аккумуляции энергии в форме фосфатной связи АТФ.

В осуществлении амебоидного движения определенную роль играет состояние плазмалеммы. Значение ее поверхностного натяжения продемонстрировано в опытах с гепарином. Оказываемое им деполимеризующее действие на мукополисахариды плазмалеммы приводит к образованию псевдоподий. Они образуются и при локальных воздействиях на плазмалемму экстрактов из гидр, причем одновременное воздействие такого экстракта на два разных участка амеб сопровождается перемещением амеб сразу в двух направлениях (Bell, 1963).

Установлено также, что вдоль тела *A. proteus* существует градиент мембранного потенциала. Участки, расположенные ближе к заднему концу, несут более отрицательный заряд по сравнению с передними. Изменяя заряд плазмалеммы, можно ускорить или замедлить движения амеб, вызвать смену направления движения или остановить его. Вещества, вызывающие локальную деполимеризацию мембраны *A. proteus*, индуцируют образование псевдоподий. Таким образом, направление и скорость движения протоплазмы амебы зависят от электрических потенциалов плазмалеммы. Допускают, что градиент электрических потенциалов регулирует тем самым

механо-химическую систему, обеспечивающую движения протоплазмы (Bingley, Thomson, 1962).

Резюмируя изложенные выше данные, можно заключить, что амебоидные движения обусловлены, по-видимому, совокупностью нескольких факторов. Из числа их следует прежде всего отметить значение трансформации энергии АТФ в механическую энергию, что является непосредственной причиной амебоидного движения¹. АТФ влияет и на физико-химическое состояние протоплазмы, обратимые изменения которого важны для осуществления амебоидного движения. Известную роль, вероятно, играет при этом и состояние плазмалеммы.

Однако некоторые наблюдения сделаны на разных объектах, что затрудняет сопоставление полученных результатов. Мы не располагаем еще достаточными сведениями о механизме амебоидных движений таких клеток, как макрофаги и клетки тканевых культур. Таким образом, общие принципы амебоидных движений нуждаются в дальнейшем изучении. Не исключено, что механизм этих движений у различных клеток может отличаться известным своеобразием, обусловленным рядом факторов, в том числе и ультраструктурной организацией клеток.

Общей же особенностью амебоидного движения является его зависимость от субстрата, на котором находится соответствующая клетка. Уже давно установлено, что амеба, свободно взвешенная в жидкой среде, может выпускать псевдоподии, но при этом она не совершает поступательных движений. Последние наблюдаются лишь после прикрепления амеб к плотному субстрату. Он необходим и другим клеткам, способным к амебоидным движениям. Для них в качестве такого субстрата в организме служат соединительнотканые волокна, поверхность эндотелиальных клеток кровеносных капилляров и пр.

Ресничное движение

Этот вид движения осуществляется благодаря деятельности специальным образом дифференцированных клеточных структур — ресничек и жгутиков. Те и другие имеют в общем однотипное строение (см. ниже). Различия между этими структурами проявляются лишь в том, что реснички сравнительно короткие и в значительном количестве распо-

¹ Участие АТФ в двигательной функции некоторых растительных клеток недавно описано М. Н. Любимовой, Н. С. Демянской и И. Б. Федорович (1964).

лагаются на свободной поверхности клетки, жгутики же немногочисленны или единичны и сравнительно длинные.

Реснички и жгутики встречаются у самых различных животных, исключая членистоногих и круглых червей; ими снабжены и некоторые растительные клетки. Движения совокупности большого числа ресничек, покрывающих поверхность клеток простейших, например инфузорий, обеспечивают вращательные и поступательные движения животного в жидкой среде. В некоторых участках тела инфузорий реснички сливаются друг с другом и образуют сравнительно крупные придатки — щетинки, или ундулирующие мембраны.

У человека мерцательные реснички встречаются в органах дыхания (полость носа, гайморова и лобная пазухи, глотка до уровня II шейного позвонка, трахея, бронхи), в органах слуха (евстахиева труба, часть барабанной полости), в половых органах (яйцеводы, вагиферус, ductus efferentes яичка) и в центральной нервной системе (эпендима центрального канала спинного мозга, Сильвиев водопровод, желудочки головного мозга). Благодаря движению ресничек осуществляется перемещение слизи, выводятся наружу различные инородные тела, проникающие с током воздуха в дыхательные пути. Некоторое представление о значении указанной функции мерцательных ресничек дают подсчеты, показавшие, что при значительной запыленности воздуха мерцательный эпителий органов дыхания задерживает и выводит наружу до 5—6 г пыли в час. С помощью движений ресничек выводятся и микроорганизмы. Экспериментально установлено, что при нарушении движения ресничек, выстилающих стенку воздухоносных путей, возрастает число легочных заболеваний вследствие ухудшенных условий элиминации бактерий.

С помощью движений жгутиков перемещаются сперматозоиды, некоторые бактерии, а также простейшие, относящиеся к классу жгутиковых.

Строение ресничек и жгутиков. Как уже отмечено выше, реснички и жгутики имеют в принципе однотипное строение. Длина их может значительно варьировать, но диаметр (за исключением концевой, суженной части жгутиков сперматозоидов) относительно постоянен и равен около 0,2 μ .

Светооптически реснички и жгутики имеют гомогенный вид и в них не обнаруживается какой-либо внутренней структуры. Последняя выявляется лишь электронномикроскопически, причем она типична для самых различных ресничек и жгутиков.

По данным электронной микроскопии, каждая ресничка или жгутик представляет собой подобие стерженька, покрытого с поверхности мембраной. Она служит непосредствен-

ным продолжением плазматической оболочки и имеет сходное с ней строение.

Под мембраной располагается пучок из 9 периферических двойных фибрилл и 2 центральных одинарных (рис. 101). Промежутки между фибриллами заполнены гомогенным веществом. Толщина фибрилл колеблется от 250 до 600 Å. На поперечном сечении как центральных, так и периферических фибрилл выявляется их электронно более плотная краевая зона и менее плотная (светлая) центральная. Поэтому допускают, что каждая фибрилла представляет подобие канала. Весь пучок фибрилл погружен своим основанием в протоплазму клетки¹ (рис. 102, 103, 104).

В жгутике сперматозоида крысы каждая фибрилла представляет полый цилиндр, в стенке которого располагаются 10 продольных нитей диаметром 35—40 Å. Расстояние между центрами соседних нитей равно 55—60 Å. Нити, вероятно, несут опорную функцию, удерживая фибриллы в выпрямленном состоянии (Pease, 1963).

Отклонения от обычного соотношения: 9 периферических двойных и 2 центральных одиночных — встречаются редко. Однако в жгутиках сперматозоидов некоторых млекопитающих и многих беспозвоночных содержится второй ряд из 9 дополнительных фибрилл или тяжей. В этом случае «формула фибриллярного набора» равна не $9+2$, как обычно, а $9+9+2$. Напротив, в палочках и колбочках сетчатки, развивающихся из эмбриональных ресничек, обычно редуцируются центральные фибриллы, и формула набора равна $9+0$. Такая же формула свойственна ресничкам неопределенного функционального значения, имеющимся на поверхности нейросекреторных клеток, некоторых нейронов и др. (П. П. Румянцев, 1965).

На боковых поверхностях периферических фибрилл имеются гребни длиной около 150 Å. По длине фибриллы эти гребни повторяются через каждые 130 Å.

Помимо указанных основных фибрилл, в некоторых ресничках (например, в ресничках инфузории тетрахимены) описаны и так называемые вторичные фибриллы. Они расположены между 2 центральными и 9 периферическими и

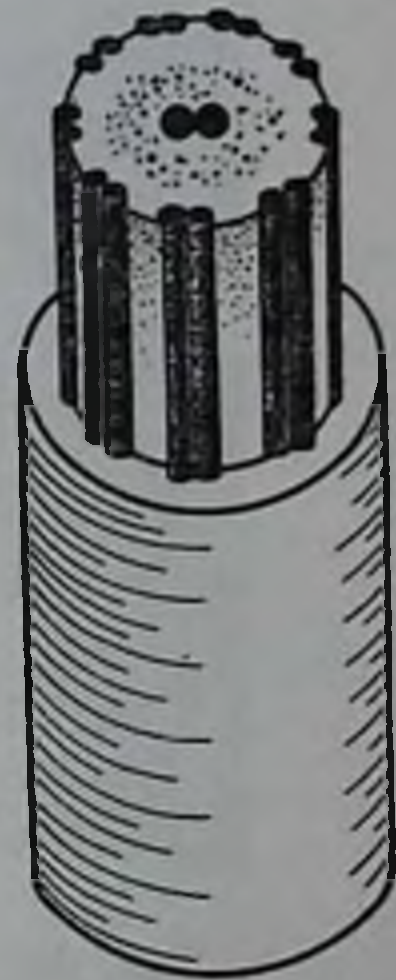


Рис. 101. Схематическое изображение строения реснички.

¹ Сходное строение имеют и стереореснички, т. е. неподвижные придатки, расположенные, например, на поверхности слуховых клеток в виде так называемых волосков.

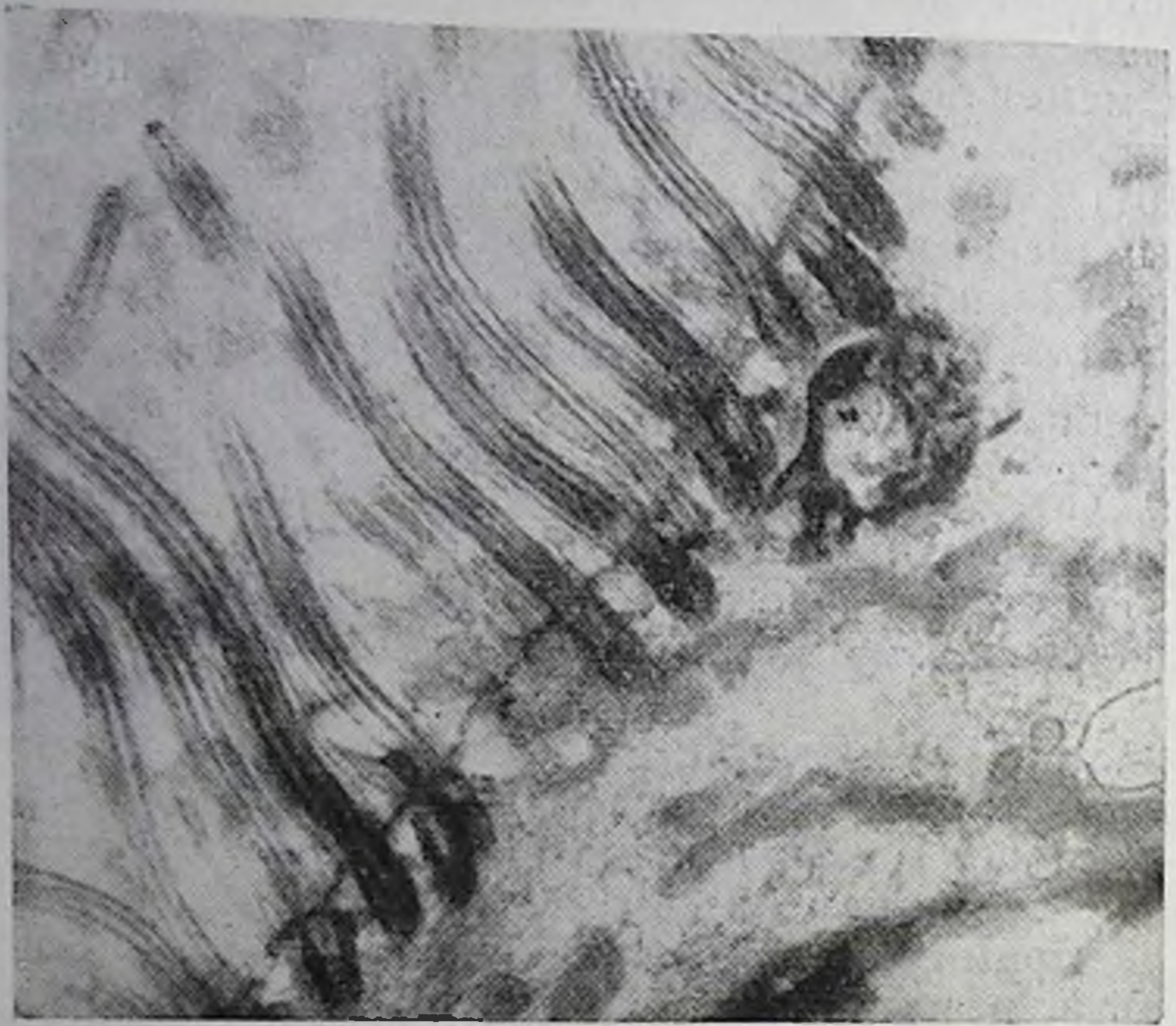


Рис. 102. Ультраструктура ресничек в продольном сечении.
Увеличение $\times 12\,000$ (по Stockinger, 1964).

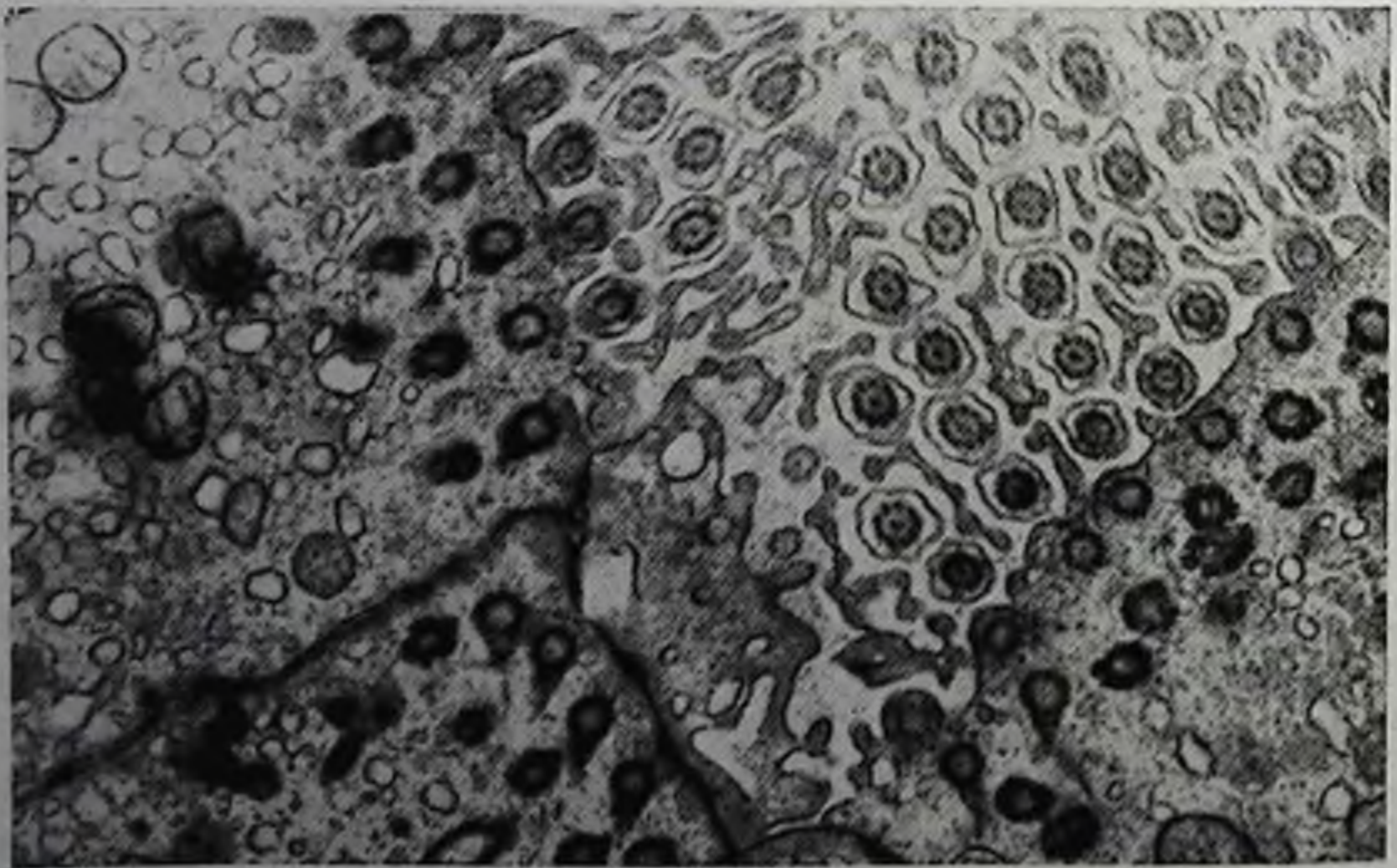


Рис. 103. Ультраструктура ресничек в поперечном сечении;
видны периферические и центральные пучки. Увеличение $\times 8000$
(по Stockinger, 1964).

соединены с ними радиальными связями (Л. Г. Федорова и С. А. Бурнашева, 1963). Однако такие вторичные фибриллы в ряде других объектов пока не обнаружены.

Реснички тетрахимен и некоторых других организмов удалось изолировать и изучить биохимически. Оказалось, что в состав ресничек входит 14,8—15,2% азота, что свидетельству-



Рис. 104. Электроннограмма поперечного сечения жгутика; видны 9 парных периферических и 2 центральные одиночные фибриллы (по Хайаши, 1962).

ет об их преимущественно белковом составе. С этим согласуются результаты исследований с применением метода диффракции рентгеновых лучей. При таких исследованиях в ресничках *Polytoma*, *Euglena*, *Chlorogonium* обнаружен белок, вероятно, типа В. В ресничках *Polytoma* и *Chlamydomonas* выявлены аминокислоты, в том числе пролин, триптофан, тирозин, цистин, а также гексозы, возможно, гексозамины и около 20% липидов.

Светооптически уже давно установлена связь ресничек с так называемой базальной гранулой (кинетосомой), расположенной в основании каждой реснички.

Электронномикроскопические наблюдения подтвердили эту связь, показав вместе с тем, что с базальной гранулой

соединяются лишь 9 периферических двойных фибрилл ресничек и жгутиков. Их центральные фибриллы до базальной гранулы не доходят, заканчиваясь несколько раньше в месте расположения электронноплотной гранулы, которая обозначается термином «аксиальная гранула» (Fawcett, 1961), «гранула центральных фибрилл» (Хейсин и Мосевич, 1962) или «аксосома» (Faugé-Fremiet, 1962).

Еще в конце XIX века возникло представление, что базальная гранула является производным центриоли. В качестве доказательства приводили, в частности, наблюдения над почечными канальцами хвостатых амфибий. У них длинные реснички отходят от поверхностно расположенной базальной гранулы, несомненно представляющей истинную центриоль. Из последней исходит и жгутик сперматозоида.

Веским доказательством идентичности базальной гранулы (кинетосомы) центриоли служит сходство их ультраструктуры. Базальная гранула, подобно центриоли, имеет форму цилиндрика длиной до 600 мк и диаметром около 120 мк. В стенке как центриоли, так и базальной гранулы располагаются 9 фибрилл, ориентированных по кругу.

В состав базальных гранул входит 50% белка, 6% углеводов, 5% липидов, 2% РНК и 3% ДНК, а также некоторые ферменты (сукцинатдегидрогеназа, фумараза и др.). Особый интерес представляют результаты наблюдений над изолированными базальными гранулами тетрахимен. В соответствующих опытах с использованием глютаминовой кислоты, меченной C^{14} , показана способность базальных гранул синтезировать белок.

Вопрос о функциональном значении базальных гранул изучен еще недостаточно. Было обращено внимание на то, что при временной утрате клетками мерцательных ресничек базальные гранулы не исчезают. Регенерирующие реснички, подобно ранее существовавшим, связаны своими периферическими фибриллами с базальными гранулами. Сопоставление этих наблюдений с изложенными выше о способности изолированных базальных гранул к синтезу белка привели к представлению, что базальные гранулы являются источником возникновения ресничек и жгутиков (Faugé-Fremiet 1962). При митотическом делении базальные гранулы могут одновременно функционировать и как центриоли.

От базальных гранул в глубь цитоплазмы отходит одна или несколько нитей, толщина которых зачастую составляет 80—100 мк. Эти нити обладают поперечной исчерченностью с периодичностью на одних объектах в 550—600 Å, на других — около 700 Å. Такая ультраструктура свидетельствует о белковом составе нитей. В совокупности они образуют так называемый реснитчатый конус, обращенный вершиной к

клеточному ядру. Функциональное значение реснитчатого конуса требует дальнейшего изучения. Допускают, что образующие его нити как бы закрепляют в цитоплазме основания ресничек (Fawcett, 1961).

Особенности ресничного движения. Учитывая важное функциональное значение ресничного движения, значительное число исследований посвящено выяснению его основных закономерностей, причем объектом изучения зачастую служили реснички, выстилающие верхние отделы воздухоносных путей. Движения таких ресничек отчетливо прослеживаются как *in vivo* — путем прямых микроскопических наблюдений или с помощью цейтраферной микрокиносъемки, так и *in vitro* — на иссеченных участках стенки соответствующих органов, помещенных в физиологический раствор. Широко применяются и соскобы с поверхностей тех же органов (например, глотки лягушки).

По данным Lucas (1932—1933), исследовавшего *in vivo* и *in vitro* поведение ресничек, выстилающих поверхность эпителиальных клеток слизистой оболочки глотки лягушки, движения ресничек не непрерывны. Они возникают только под влиянием каких-либо стимулов, например при нанесении на поверхность эпителия взвеси угля, при орошении слизистой оболочки физиологическим раствором и т. п.

Частота движений ресничек мерцательного эпителия различных объектов несколько варьирует, но в общем является значительной. Так, в трахее черепах она составляет 2,2—5,5 движений в секунду, в глотке лягушек — 10—17, в трахее кроликов, крыс и мышей — 15—18 движений в секунду. У простейших *Epistulus* в секунду наблюдали 32—42 движения жгутиков.

Несмотря на микроскопические размеры ресничек, они в совокупности развивают значительную силу, достаточную, например, для перемещения по горизонтально растянутому пищеводу лягушки груза в 10 г. Совокупность ресничек (мерцательное поле) на площади в 1 см² в глотке лягушки развивает силу, достаточную для передвижения груза в 34,3 г (А. П. Шмагина, 1948). Показано также, что движения ресничек могут обеспечить перемещение сгустка слизи по трахее утки в направлении от отрицательного давления к положительному. Сила движений ресничек достаточна для того, чтобы частицы карборунда перемещались по трахее кролика и пищеводу лягушки со скоростью 0,3—0,5 мм/мин (Hill, 1957). Скорость перемещения слизи в трахее живых крыс, мышей и кроликов равна около 2,5 мм/мин (Kueger, Smith, 1958).

Определение силы движений одной реснички или жгутика связано со значительными техническими трудностями

вследствие микроскопических размеров этих образований. Однако технические трудности удалось преодолеть при изучении движений ресничек моллюска *Mytilus Edulis*. Его реснички относительно крупные (длина их около 50 μ) и они сравнительно редко расположены. Была разработана специальная методика опытов: с помощью тонкой, а поэтому сравнительно легко сгибаемой стеклянной иглы останавливали движения отдельных ресничек, регистрируя силу, которую нужно приложить для этого. Оказалось, что эта сила равняется $2-8 \cdot 10^{-7}$ (в среднем $4 \cdot 10^{-7}$) дины (Joneda, 1960).

Прижизненные наблюдения показали, что реснички, расположенные друг за другом по длине органа, движутся последовательно и вслед за сокращением одной реснички наступает сокращение последующей. Благодаря этому создается направленный ток жидкости в просвете полых органов (например, в просвете трахеи) и в определенном направлении перемещаются те или иные инородные тела (пылевые частицы, бактерии и т. д.). В плоскости же, перпендикулярной направлению общего движения, сокращения соседних ресничек осуществляются изосинхронно, т. е. в любой момент все реснички находятся в одной и той же фазе сокращения. Эта координация ресничного движения отчетливо проявляется и при нанесении на поверхность мерцательного эпителия глотки лягушки инородного вещества, например кристаллика камфары: движения ресничек усиливаются не только в участке контакта с камфарой, но и на расстоянии нескольких миллиметров в окружности.

Координированность движений ресничек в пределах целого органа сохраняется некоторое время и посмертно¹, и *in vitro*; она проявляется также при экспериментально вызванном изменении направления движения. Так, если вырезать из глотки лягушки участок эпителия и вновь приживить его, повернув предварительно на 180° , то движения всех ресничек такого участка эпителия будут происходить в прежнем направлении, т. е. в противоположном направлении движений ресничек эпителия соседних участков.

Указанная координированность движений заставляет предполагать наличие какого-то регулирующего механизма. Однако его природа пока не выяснена. Предположение о неврогенной природе такого механизма опровергается приведенными выше наблюдениями о сохранении координированности движения ресничек *in vitro*. К тому же следует учесть, что адреналин и ацетилхолин, как и гистамин, опиум, салицилаты, стрихнин, морфин и ряд других веществ практически не влияют на скорость ресничного движения.

¹ Посмертное движение ресничек может продолжаться несколько суток, в трупах людей — на протяжении 3—5 дней.

Однако если неврогенные стимулы не имеют отношения к координированности ресничного движения, то раздражение соответствующих нервов оказывает некоторое влияние на скорость этого движения. Она возрастает, в частности, в глотке лягушки при раздражении языкоглоточного нерва. Раздражение нервов вызывает аналогичный эффект на щупальцах улитки, но оказывает противоположное действие на плавательные пластинки гребневиков (A. Lucas и M. Lucas, 1964).

У лягушек, кошек и собак раздражение индукционным током блуждающего нерва вызывает ускорение мерцательного движения в пищеводе. Раздражение симпатического нерва сопровождается противоположным эффектом. Скорость мерцательного движения может быть также изменена рефлекторным путем, например при раздражении седалищного нерва (А. П. Шмагина, 1948). Эти данные свидетельствуют о неврогенной регуляции мерцательного движения в целостном организме.

Из физических факторов на мерцательное движение влияют механическая энергия, температура, электрический ток. Рентгеновское облучение даже в очень больших дозах не оказывает такого действия.

Изменения скорости ресничного движения наблюдаются под влиянием водородных ионов, небольшое повышение концентрации которых вызывает усиление движений, а более значительное — их замедление или остановку. Движения ресничек зависят также от наличия в среде ионов натрия, калия, кальция, магния, рубидия, цезия и ряда анионов. Однако трудно установить, направлено ли действие этих веществ непосредственно на мерцательный аппарат или наблюдаемые изменения движения обусловлены влиянием данных веществ на клетки в целом. Вне зависимости от этого следует подчеркнуть, что мерцательные движения прекращаются при отсутствии в среде ионов кальция и магния (см. ниже).

На частоту движения ресничек воздухоносных путей известное влияние оказывают также ионы воздуха. Положительно заряженные ионы вызывают некоторое замедление ресничного движения в трахее кроликов, крыс и мышей. Отрицательно заряженные ионы оказывают противоположное действие и могут устранить влияние положительно заряженных ионов (Kueger, Smith, 1958).

Наблюдаются три основные формы ресничного движения: 1) вращательные движения жгутиков, которые могут быть винтообразно изогнуты; 2) змеевидные (волнообразные) движения жгутиков, при которых одна или несколько волн сгибания перемещаются по длине жгутика; 3) движение по

типу гребного удара. Этот тип движения осуществляется как жгутиками, так и ресничками.

Методом цейтраферной микрокиносъемки было установлено, что движения реснички по типу гребного удара состояются из «рабочего взмаха» и «обратного взмаха». При первом движении, напоминающем движение веслом, слегка выгнутая ресничка сгибается только у основания; благодаря «рабочему взмаху» совокупности ресничек соответствующая

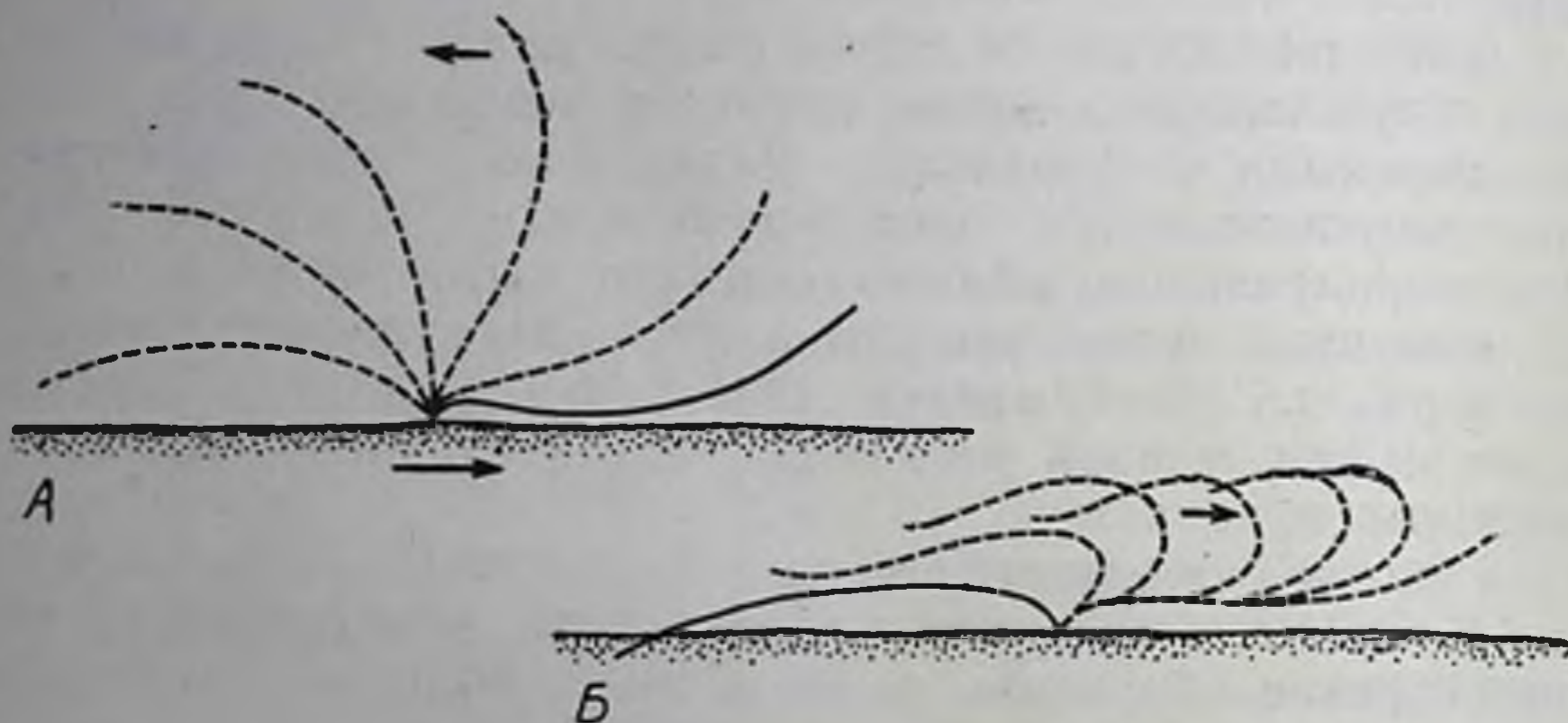


Рис. 105. Схематическое изображение движения реснички на поверхности организма, движущегося вправо (по Хайаши, 1962).

А — рабочий взмах; Б — возвратный взмах.

клетка перемещается или происходит перемещение жидкости вдоль поверхности клетки, покрытой ресничками. При «возвратном взмахе» ресничка начинает изгибаться у основания в направлении, противоположном таковому при «рабочем взмахе». Затем перегиб волнообразно распространяется к концу реснички и в конечном итоге она возвращается в исходное положение (рис. 105).

Допускают, что «рабочий взмах» обеспечивается сокращением пяти наружных нитей, находящихся на одной стороне каждой реснички и сокращающихся одновременно. «Обратный взмах» обусловлен сокращением четырех остальных нитей, а две центральные нити служат для передачи импульса, приводящего к сокращению реснички. В принципе однотипно сокращаются и жгутики при данной форме движения (Т. Хайаши, 1962) (рис. 106).

В пользу представления о различной функции центральных и периферических фибрилл свидетельствуют результаты комбинированного цитохимического и электронномикроскопического исследования, показавшего, что АТФ-аза, сукцинатдегидрогеназа и цитохромоксидаза находятся в перифе-

рических фибриллах и отсутствуют в центральных (Nelson, 1958, 1959).

Большой интерес представляет вопрос о биологическом субстрате, обеспечивающем сокращения ресничек и жгутиков.

На основании сопоставления действия катионов на реснитчатые клетки и на сердечную мускулатуру еще в 20-х годах нашего века было высказано предположение о сходстве

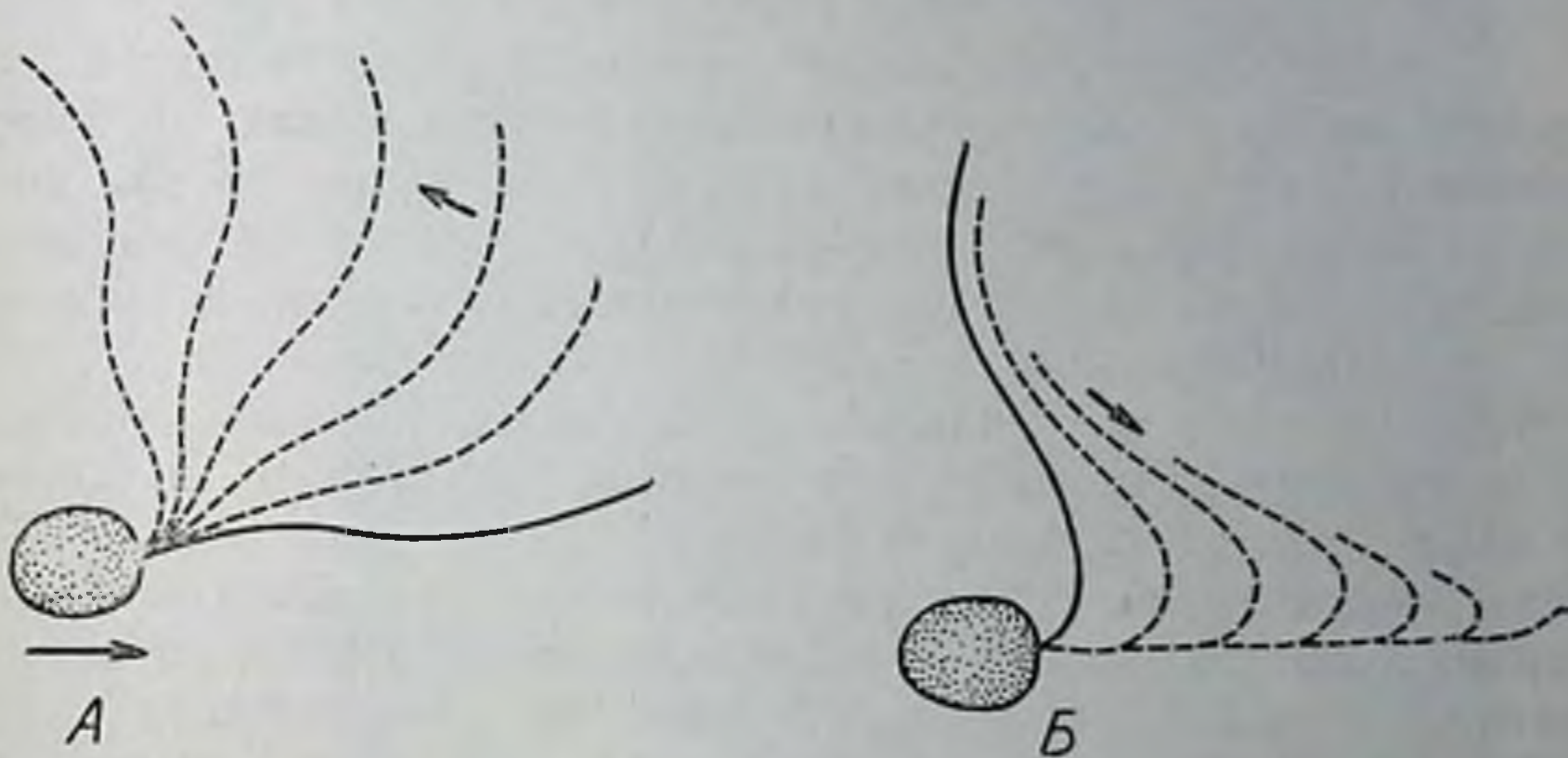


Рис. 106. Схема движения жгутика, продвигающего простейшее вправо (по Хайаши, 1962).

А — рабочий взмах; Б — возвратный взмах.

сокращения ресничек и мышечных волокон. Эта гипотеза оставалась до начала 50-х годов недостаточно аргументированной, вызывала возражения и критически оценена рядом исследователей (Ш. Инуэ, 1961, и др.).

Однако в дальнейшем было показано, что под влиянием АТФ, ионов кальция и магния у сохранившихся в глицерине сперматозоидов возникают движения хвостовых отделов, которые до того были неподвижны вследствие нахождения в консерванте — глицерине. Указанные движения возникают при этом под влиянием таких концентраций АТФ, которые вызывают и описываемые ниже сокращения моделей мышечных волокон (Hoffman-Berling, 1954). АТФ вызывает также движения ресничек мерцательного эпителия, убитого глицериновой экстракцией (В. Я. Александров и Н. И. Арронет, 1956).

Наконец, С. А. Бурнашева (1958) выделила из жгутиков сперматозоидов контрактильный белок — спермозин, весьма напоминающий актомиозин (см. ниже) мышц, хотя и несколько отличающийся от него, как впоследствии продемонстрировано иммуноцитохимически. Учитывая эти данные, есть основания считать, что сокращения ресничек и жгути-

ков зависят от наличия в них контрактильного белка, изменения конфигурации которого совершаются под влиянием АТФ в присутствии ионов кальция и магния. С этим согласуются и данные о локализации АТФ-азы в периферических фибриллах ресничек.

Мышечное движение

Клеточное движение может осуществляться не только благодаря перемещению протоплазмы, как у амёб, фагоцитов и других указанных выше клеток, но и за счет специально дифференцированных сократимых элементов — миофибрилл. Они обеспечивают весьма совершенный и сложный способ движения.

Миофибриллы встречаются в миоэпителиальных и гладких мышечных клетках, у простейших (мионемы), в волокнах скелетной и сердечной мускулатуры. Мы не будем останавливаться на строении перечисленных объектов, что составляет предмет частной цитологии, и ограничимся общей характеристикой миофибрилл в качестве специальных органоидов, с которыми в первую очередь связано мышечное движение. Более подробно строение миофибрилл изучено в поперечнополосатых мышечных волокнах, которые в связи с резкой функциональной специализацией представляют своеобразные структуры типа симпластов.

Каждая миофибрилла таких волокон, по данным световой микроскопии, состоит из чередующихся более светлых и более темных участков — дисков. В поляризованном свете темные диски обнаруживают положительное двойное одноосное лучепреломление и являются, таким образом, анизотропными (А-диски), светлые диски изотропны (I-диски). В свою очередь А-диск подразделен на две равные половины менее плотной зоной — полоской или диском H. Посередине I-диска проходит более темная полоска (или пластинка) Z. Участок миофибриллы, ограниченный двумя полосками Z, рассматривается в качестве повторяющегося основного элемента миофибрилл — саркомера (рис. 107).

В расслабленной мышце млекопитающего длина А-диска составляет около 1,5 μ , а I-диска — 0,8—1 μ . Диаметр миофибриллы равен приблизительно 1 μ .

Электронномикроскопически каждая миофибрилла представляет пучок более тонких нитей, так называемых протофибрилл (или миофиламентов). Установлено наличие протофибрилл двух типов: тонких и толстых с диаметром, в 2—2 $\frac{1}{2}$ раза большим, чем у первых. Толщина тонких протофибрилл у лягушки и кролика составляет около 50 Å .

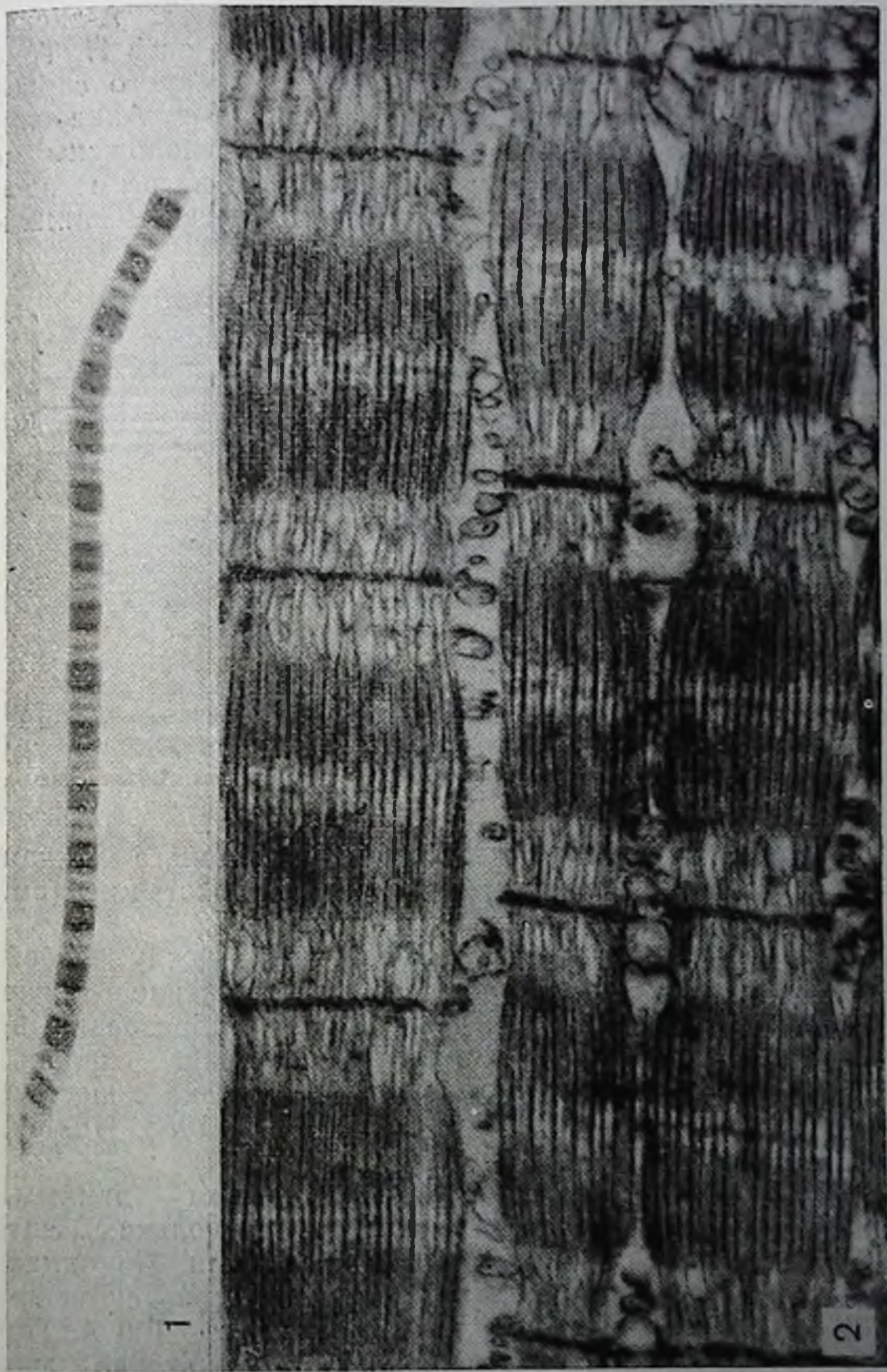


Рис. 107. Строение мышечного волокна (по Huxley и Hanson, 1960).

1 — поперечная исчерченность в изолированной миофибрилле мышцы кролика. Увеличение $\times 24\,800$; 2 — ультраструктура миофибрилл. Увеличение $\times 53\,000$.

а толстых — около 100 Å. У крыс эти цифры равны соответственно 60 и 150 Å. В расслабленном мышечном волокне толстые протофибриллы расположены в пределах А-диска, причем они проходят и через разделяющий его диск Н. Тонкие же протофибриллы тянутся в пределах каждого саркомера от диска Z до диска Н (рис. 107, рис. 108). Аналогичным образом протофибриллы обоих типов расположены и во всех остальных саркомерах, т. е. однотипно на всем протяжении миофибриллы. На их поперечных сечениях каждая

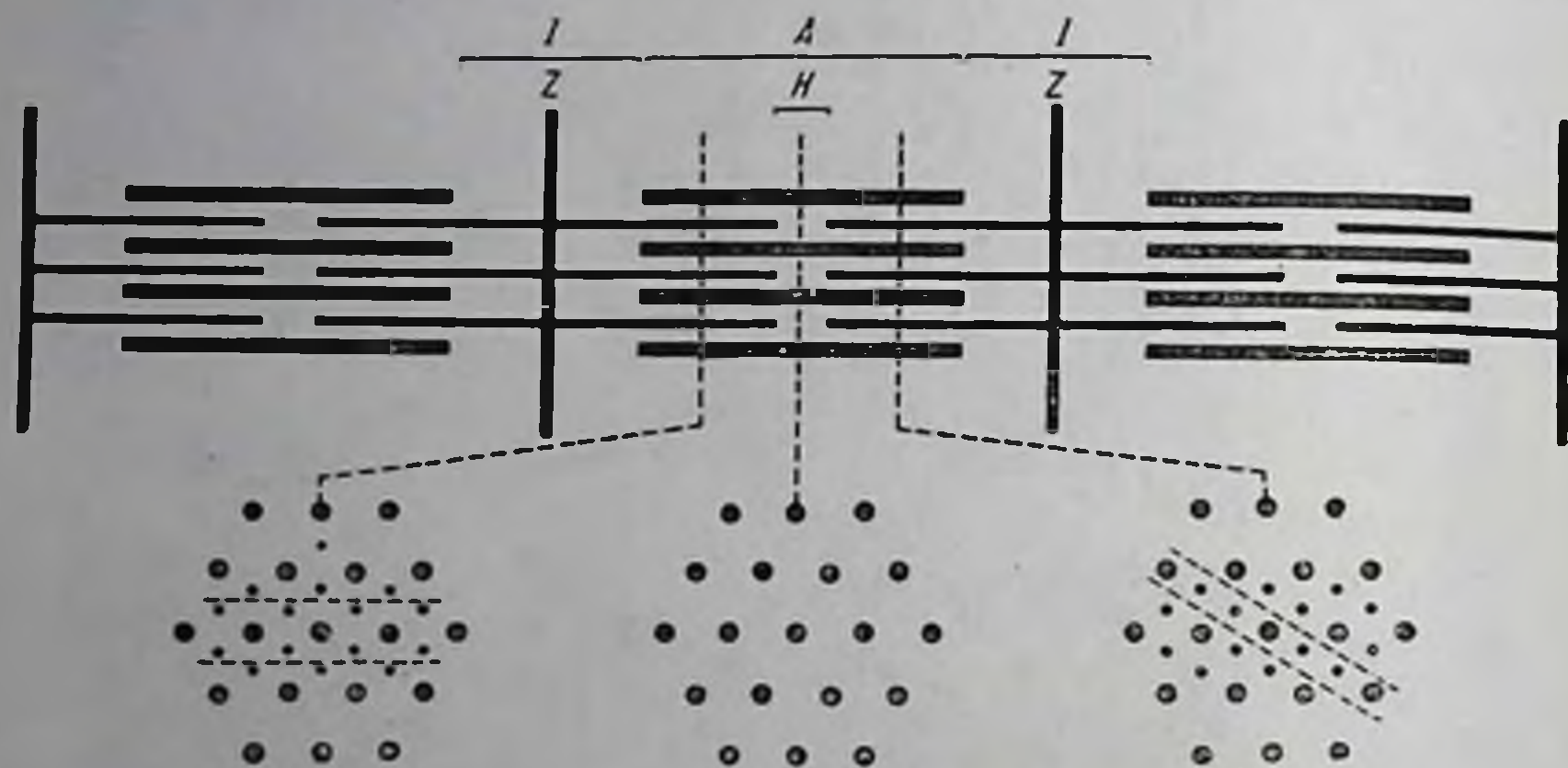


Рис. 108. Схематическое изображение расположения тонких и толстых протофибрилл (по Huxley и Hanson, 1960).
Вверху — продольное, внизу — поперечное сечение миофибриллы. Объяснение в тексте.

толстая протофибрилла окружена шестью тонкими, а каждая из последних расположена между тремя толстыми (см. рис. 108).

Протофибриллы обоих типов соединены между собой системой поперечных мостиков. Их расположение также упорядоченное. Каждый поперечный мостик, образованный, по-видимому, толстой протофибриллой, описывает спираль. В результате одна толстая протофибрилла связана с шестью тонкими через каждые 400 Å (Hanson, Huxley, 1953; Huxley, Hanson, 1960).

По новейшим электронномикроскопическим данным, протофибриллы в свою очередь состоят из нескольких еще более тонких нитей, так называемых субъединиц. На одних объектах в составе протофибрилл имеется по три субъединицы диаметром около 20 Å и длиной порядка 100 Å. По другим данным, толстые протофибриллы содержат по две субъединицы, которые взаимно охватывают друг друга и образуют при этом спиралевидную структуру диаметром около 80 Å. В. П. Гилев (1964) предполагает наличие шести субъединиц диаметром 40—45 Å в мышцах краба.

Современные представления о механизме сокращения поперечнополосатых мышечных волокон основаны на теории «скользящих нитей» (Huxley, 1957). Согласно этой теории, толстые и тонкие протофибриллы при сокращении мышцы не изменяют своей длины, но смещаются (как бы скользят) друг по отношению к другу. При этом толстые протофибриллы остаются в А-дисках, тонкие же все более перемещаются из I-диска в А-диск. Расстояние между обращенными друг к другу концами тонких протофибрилл прогрессивно уменьшается, а при значительном сокращении мышцы сближаются

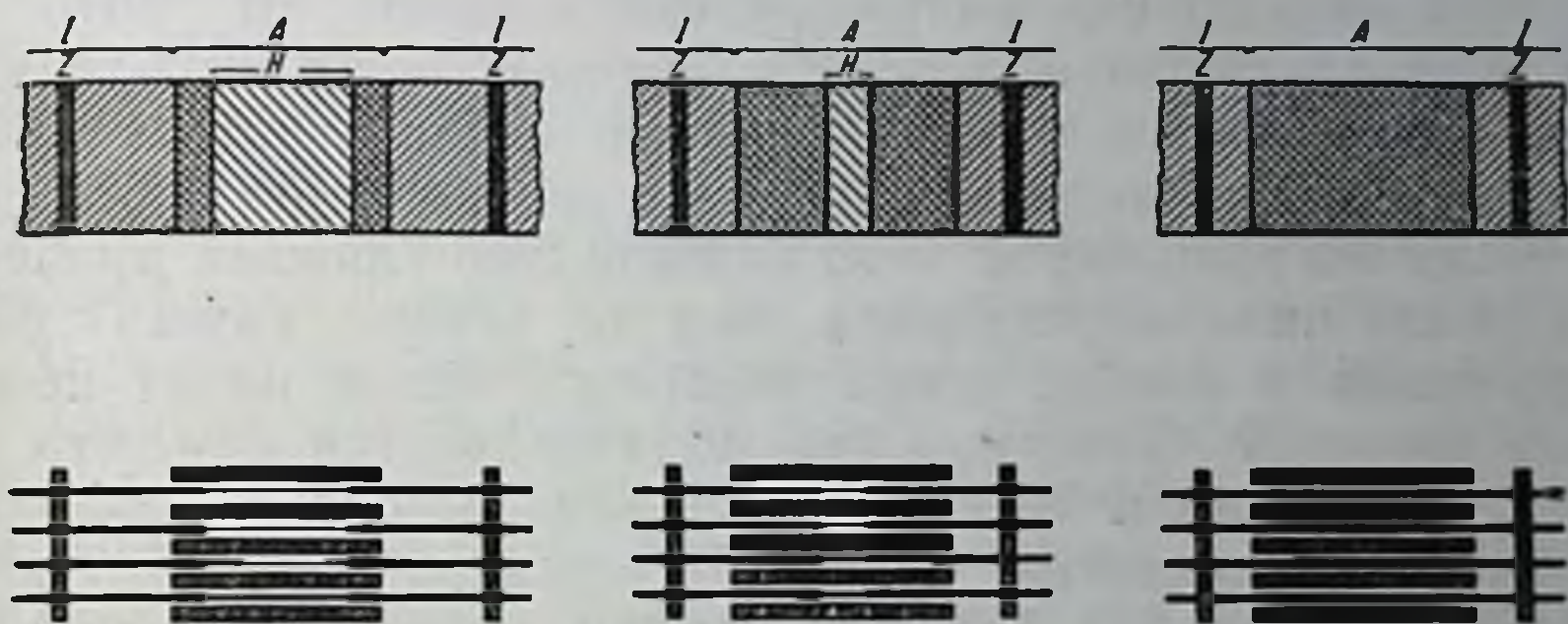


Рис. 109. Схематическое изображение смещения тонких и толстых протофибрилл при расслаблении (слева) и при сокращении (справа) миофибриллы; в центре — расположение протофибрилл в состоянии покоя (по Huxley и Hanson, 1960). Объяснение в тексте.

ся концы и толстых протофибрилл (рис. 109). При еще большем сокращении мышцы наступают некоторое сморщивание протофибрилл и взаимное наложение их концов.

Указанному смещению протофибрилл при сокращении придают важное значение ввиду неодинакового химического состава тонких и толстых протофибрилл. Первые из них преимущественно состоят из особого белка — актина, вторые — из белка миозина. При взаимодействии обоих белков образуется комплекс — актомиозин. *In vitro* его раствор при внесении в воду застывает с образованием тонких нитей, способных сокращаться в присутствии АТФ, ионов калия и магния (В. А. Энгельгардт, 1941; Szent-Györgyi, 1947).

Результаты модельных опытов, показавших, что актомиозин является сократительным белком миофибрилл, использованы для объяснения механизма сокращения мышечных волокон. Допускают, что вследствие преимущественной локализации миозина в толстых протофибриллах, а актина — в тонких актомиозин в расслабленной мышце может находиться лишь в А-дисках, в местах взаимного наложения друг на друга толстых и тонких протофибрилл. На осталь-

ном протяжении саркомера актиновые и миозиновые нити пространственно разделены. Допускают далее, что имеющееся количество актомиозина, взаимодействующего с АТФ мышцы, обеспечивает начальный этап сокращения мышцы. По мере скольжения протофибрилл тонкие протофибриллы все более располагаются над толстыми, пространственная разделенность актина и миозина исчезает, и это создает необходимые условия для максимального образования актомиозина (Huxley, 1957; Huxley, Hanson, 1960).

При оценке изложенных представлений следует иметь в виду, что сокращения актомиозиновых нитей *in vitro* не идентичны сокращению живых мышечных волокон. Актомиозиновые нити, как и мацерированные мышцы, представляют лишь отдаленную модель мышечных волокон организма. Механизм их сокращения *in vivo* значительно сложнее процесса сокращения нити актомиозина, тем не менее самый факт обнаружения в мышце сократительного белка имеет несомненное значение. Особенно оно подчеркивается тем, что актомиозин благодаря наличию в нем миозина обладает АТФ-азной активностью (В. А. Энгельгардт и М. Н. Любимова, 1942). Подобно АТФ-азе миозин, действуя на АТФ, расщепляет ее до аденозиндифосфорной кислоты, адениловой кислоты и H_3PO_4 . При этом освобождается большое количество энергии, которое необходимо для выполнения мышцей механической работы. АТФ принадлежит особенно важная роль в превращении химической энергии в механическую, и это превращение осуществляется при непосредственном участии актомиозинового комплекса.

Механизм сокращения остальных мышечных элементов, в том числе гладких мышечных клеток, и особенности их сократимых элементов изучены менее подробно, чем поперечнополосатых мышечных волокон. У некоторых объектов миофибриллы гладких мышечных клеток состоят из протофибрилл. В других случаях при электронномикроскопическом исследовании миофибриллы не обнаружены, выявлены изолированно проходящие в протоплазме протофибриллы, соединение которых в пучки рассматривается как артефакт вследствие неудачной фиксации. Вне зависимости от этого не возникает сомнения в наличии в гладких мышечных клетках протофибрилл. Какие-либо перерывы по длине их с достоверностью не установлены. Поэтому есть основания считать, что протофибриллы тянутся по всей длине гладких мышечных клеток и являются таким образом более длинными, чем в поперечнополосатых мышечных волокнах.

В подавляющем большинстве случаев в гладких мышечных клетках содержится один тип протофибрилл с диаметром около 100 Å. (П. П. Румянцев, 1965). Однако в мышцах

ретрактора глотки *Helix pomatia*, ретрактора воронки каракатицы и некоторых других объектов описаны протофибриллы двух типов, ультраструктурно сходные с тонкими и толстыми протофибриллами поперечнополосатых мышечных волокон. У некоторых беспозвоночных протофибриллы гладких мышечных клеток спиралевидно изогнуты. В мышцах червей протофибриллы прикреплены к особым электроноплотным палочковидным структурам. Учитывая изложенное, можно предположить, что строение протофибрилл в гладких мышечных клетках значительно более вариабильно, чем в поперечнополосатых волокнах. Тем не менее в гладких мышечных клетках, как и в поперечнополосатых мышечных волокнах, имеются все три основных типа белков: миозин, актин и тропомиозин.

Возможно, что при наличии в гладких мышечных клетках протофибрилл одного типа все они являются актомиозиновыми. Поэтому механизм сокращения гладких мышечных клеток пока не может быть объяснен принципом скользящих нитей, в основе которого лежит представление о пространственной разделенности актина и миозина в толстых и тонких протофибриллах. Однако самый факт полного сходства как актина, так и миозина в гладких мышечных клетках и поперечнополосатых мышечных волокнах представляется весьма важным, учитывая сказанное выше об АТФ-азной активности актомиозина.

Резюмируя данные, приведенные в этой главе, следует еще раз подчеркнуть сходство актомиозина, миксомиозина и спермомина, а также роль АТФ в качестве основного источника энергетического обеспечения разных форм клеточного движения — амебоидного, челночного, ресничного, мышечного сокращения и движения растений. Есть все основания считать, что эти виды движения совершаются на одной биохимической основе. Иными словами, различные формы движения при всем разнообразии их внешних проявлений основаны на общих принципах, т. е., по определению В. А. Энгельгардта (1957), «проявляется единство во множестве».

ЛИТЕРАТУРА

- Аллен Р. Амебоидное движение. В кн.: Структура и функция клетки. «Мир», 1964.
- Адо А. Д. Патофизиология фагоцитов. Медгиз, М., 1961.
- Александров В. Я., Арронет Н. И. ДАН СССР, 1956, 110, 3, 457—460.
- Бурнашева С. А. Биохимия, 1958, 24, 4, 558—567.
- Гилев В. П. Журн. общей биол., 1964, 25, 3, 217—223.
- Инуэ Ш. Подвижность ресничек и жгутиков и механизм митоза. В кн.: Современные проблемы биофизики. Т. 2, ИЛ. М., 1961, 134—141.
- Камия Н. Движения протоплазмы. ИЛ. М., 1962.

- Любимова М. Н., Демянская Н. С., Федорович И. Б. Биохимия, 1964, 29, 3, 774—779.
- Румянцев П. П. Органонды специального значения. В кн.: Руководство по цитологии. Изд. «Наука». М.—Л., 1965.
- Серавин Л. Н. Цитология, 1964, 6, 6, 881—899.
- Федорова Л. Г., Бурнашева С. А. Цитология, 1963, 5, 5, 689—691.
- Хайаши Т. Как клетки движутся. В кн.: Живая клетка. ИЛ. М., 1962, 146—163.
- Шмагина А. П. Мерцательное движение. М., 1948.
- Энгельгардт В. А. и др. ДАН СССР, 1941, 30, 7, 639—703.
- Энгельгардт В. А., Любимова М. Н. Биохимия, 1942, 7, 5—6, 205—211.
- Abé T. Cytologia, 1961, 26, 3—4, 378—407; 1962, 27, 2, 111—139.
- Bell G. News scientist, 1963, 18, 103—105.
- Bingley M., Thomson C. J. Theoret. Biol., 1962, 2, 16—32.
- Cheissin E. M., Mosevich T. N. Arch. Protistenk., 1962, 106, 1, 181—184.
- De Bruyn P. P. H. Quart. Rev. Biol., 1947, 22, 1—27.
- Engelgardt W. A. Proc. Int. Symp. Enzyme Chem. Tokyo, 1957, 34—39.
- Fauré-Fremiet E. Biol. Rev., 1961, 36, 4, 464—536.
- Fawcett D. W. Cilia and flagella. В кн.: The Cell. New York, 1961, 2, 217—234.
- Goldacre R. J., Lorch J. J. Nature, 1950, 166, 4217, 497—500.
- Goldacre R. J. Intern. Rev. Cytol., 1952, 1, 135—141.
- Hanson J., Huxley H. E. Nature, 1953, 172, 4377, 530—533.
- Hill J. R. J. Physiol., 1957, 139, 2, 157—165.
- Hoffman-Berling H. Biochem. Biophys. Acta, 1954, 14, 2, 182—194.
- Huxley A. F. Progr. Biophys., 1957, 7, 2, 255—318.
- Huxley H. E., Hanson J. The molecular basis of contraction. В кн.: The structure and function of muscle. Acad. Press. New York, 1960, 137—179.
- Kamiya N. Physical aspects of the protoplasmic streaming. Monogr. Amer. Soc. Plant Physiol. (ed by Seifriz). Yowa, 1942, 199—244.
- Kavanaugh J. J. Theoret. Biol., 1963, 4, 1, 124—141.
- Kriszat G. Arch. Zool., 1954, 6, 2, 195—201.
- Krueger A. P., Smith R. F. J. General Physiol., 1958, 42, 1, 69—82.
- Kuroda K. Compt. rend. Soc. biol., 1958, 152, 392—394.
- Landau P., Zimmerman P., Marsland K. J. Exp. Biol., 1954, 3, 121—163.
- Lucas A. M. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1932—1933, 30, 501—506.
- Lucas A. M., Lucas M. S. Cilia. В кн.: Laboratory technique in biology and medicine. Baltimore, 1964, 96—101.
- Loewy A. G. J. Cell. Comp. Physiol., 1952, 40, 2, 127—156.
- Mast S. Protoplasma, 1931, 14, 3, 321—330.
- Nelson L. J. Biochem. Biophys. Acta, 1958, 27, 5, 634—638.
- Nelson L. Exp. Cell. Res., 1959, 16, 4, 403—411.
- Pease D. J. Cell. Biol., 1963, 18, 2, 313—326.
- Simard-Duquesne N., Couillard P. Exp. Cell Res., 1962, 28, 1, 85—100.
- Szent-Györgyi A. Chemistry of muscular contraction. Acad. Press. New York, 1947.
- Takeuchi J., Hatano S. 20-th Ann. Meet. Bot. Soc. Japan, 1956, 118—121.
- Tsó P. O. P., Eggman L., Vinograd J. Biochem. Biophys. Acta, 1957, 25, 4, 532—542.
- Yoneda M. J. Exp. Biol., 1960, 37, 3, 461—468.

XIV

РЕАКЦИЯ КЛЕТКИ НА ВНЕШНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

В процессе жизнедеятельности любая клетка испытывает влияние различных факторов внешней или внутренней среды организма. Поэтому важное значение имеет изучение реакции клеток на внешнее воздействие. Однако выяснение интимного механизма этой реакции связано со значительными трудностями. Они определяются прежде всего многообразием действующих на клетки факторов. К числу их относятся различные воздействия физического и химического порядка, как, например, изменения химического состава веществ, поступающих в клетки, сдвиг в щелочную или кислую сторону рН среды, температурные колебания, воздействия лучистой энергии, механические влияния и многие другие. К тому же длительность и интенсивность воздействия в разных случаях неодинаковы, отчего реакция клетки на один и тот же раздражитель может значительно варьировать.

Реакция простейших и клеток примитивных многоклеточных организмов возникает в ответ на непосредственное действие факторов внешней среды. У более высоко организован-

ных животных в связи со сложной дифференциацией различных тканевых систем воздействующий агент способен влиять на клетки не только непосредственно (например, прямое действие механической энергии или температуры на покровные клетки кожи), но и опосредованно через систему нейро-гуморальной регуляции. У подавляющего большинства животных, исключая примитивно организованных, наблюдается комбинация обоих типов воздействий: например, прямое действие температурного фактора на клетки и изменение их питания вследствие рефлекторно вызванного нарушения кровообращения.

Помимо того, следует учитывать известные различия реакции клеток, находящихся на разных стадиях жизненного цикла. Клетки различных тканей обладают неодинаковой чувствительностью к действию ряда агентов, в том числе проникающего излучения.

Необходимо отметить также многообразие проявлений реакции клетки на те или иные агенты. Некоторые из них были указаны в предыдущих главах (изменения объема ядер при изменении функционального состояния клеток, нарушения их проницаемости под влиянием наркотиков, температурных сдвигов и т. п., изменения митотической активности и др.). Отмеченная особенность клеточной реакции определяется взаимосвязью и взаимообусловленностью деятельности различных внутриклеточных структур. Поэтому любое воздействие должно вызывать в клетках совокупность сочетанных сдвигов. Однако их уловимость в значительной мере зависит от технических возможностей экспериментальной работы. В силу указанного исследователь неизбежно лимитирован тем, что ему доступно на определенном этапе развития науки.

Вне зависимости от этого очевидно, что анализ реакции клеток на внешние воздействия требует всестороннего учета совокупности факторов, касающихся как воздействующего агента, так и реагирующей системы.

При таком анализе необходимо учитывать неспецифический характер ряда проявлений реакции клеток на внешнее воздействие. Так, проницаемость клеток может однотипно изменяться под влиянием наркотиков, температуры, проникающего излучения и других агентов (см. ниже).

Вместе с тем имеются и многочисленные примеры специфического действия на клетки некоторых агентов. Аналоги пуринов и пиримидинов, хлорэтиламины и этиленамины, актиномицин С, митомицин С, ионизирующее излучение и другие мутагенные воздействия избирательно поражают синтез ДНК, вызывают задержку вступления клеток в митоз и фрагментацию хромосом. Такие же вещества, как колхицин

и сульфгидрильные ингибиторы, не нарушая вступления клеток в деление, останавливают митоз в метафазе и нарушают образование митотического аппарата (И. А. Алов, 1964).

При дальнейшем изложении мы не будем останавливаться на особенностях реакции клеток в ответ на тот или иной раздражитель, так как основная цель данной главы состоит в освещении общих закономерностей этой реакции.

Д. Н. Насоновым и его школой на протяжении ряда лет систематически исследовалась реакция клеток на разнообразные воздействия с физико-химических позиций. Результатом этих исследований явилась концепция о паранекрозе, детально обоснованная Д. Н. Насоновым и В. Я. Александровым (1940), Д. Н. Насоновым (1959) и др. Приводимое ниже описание паранекроза излагается по Д. Н. Насонову (1959).

Изучение клеток, подвергшихся разнообразным воздействиям (повышение температуры, механические воздействия, лучистая энергия, гидростатическое давление, электрический ток, поверхностно-активные вещества — наркотики, кислоты, щелочи, гипо- и гипертония, соли тяжелых металлов, гипоксия и др.), показало принципиально однотипный характер клеточной реакции, несмотря на разнообразие использованных воздействий. Все они вызывают уменьшение степени дисперсности коллоидов ядра и цитоплазмы. В результате при наблюдении в темном поле цитоплазма клеток вначале начинает светиться бледно-голубым цветом, а позднее в ней появляются ярко светящиеся белые структуры. В обычном световом микроскопе отмечается мутность цитоплазмы и структурированность ядер как на фиксированном, так и на окрашенном препарате (см. главу IX).

Параллельно увеличивается вязкость цитоплазмы, причем она возрастает либо сразу же под действием соответствующего раздражителя, либо вначале вязкость несколько понижается, но затем повышается. Такая двухфазная реакция отмечается при действии слабых раздражителей.

Под влиянием указанных раздражителей возрастает способность цитоплазмы связывать прижизненные красители. В норме неповрежденные ядро и цитоплазма не окрашиваются растворами кислых и основных красителей. Проникая в клетку, красители (например, нейтральный красный) концентрируются в ее цитоплазме в виде гранул и вакуолей. Если же клетки подвергались действию раздражителя, то способность цитоплазмы концентрировать и откладывать краситель в виде гранул и вакуолей (способность к гранулообразованию) постепенно ослабевает, а затем может и совершенно парализоваться. Одновременно цитоплазма начинает диффузно сорбировать витальный краситель и под

микроскопом отмечается ее диффузная окраска. Кариоплазма в этих условиях также приобретает способность к сорбции витального красителя, причем в ядре интенсивно прокрашиваются глыбки хроматина, ядрышко и ядерная оболочка. В результате ядро приобретает такую же структурированность, как на фиксированном и окрашенном препарате (рис. 110).

Указанные изменения зачастую сопровождаются сдвигом активной реакции цитоплазмы в кислую сторону, а также

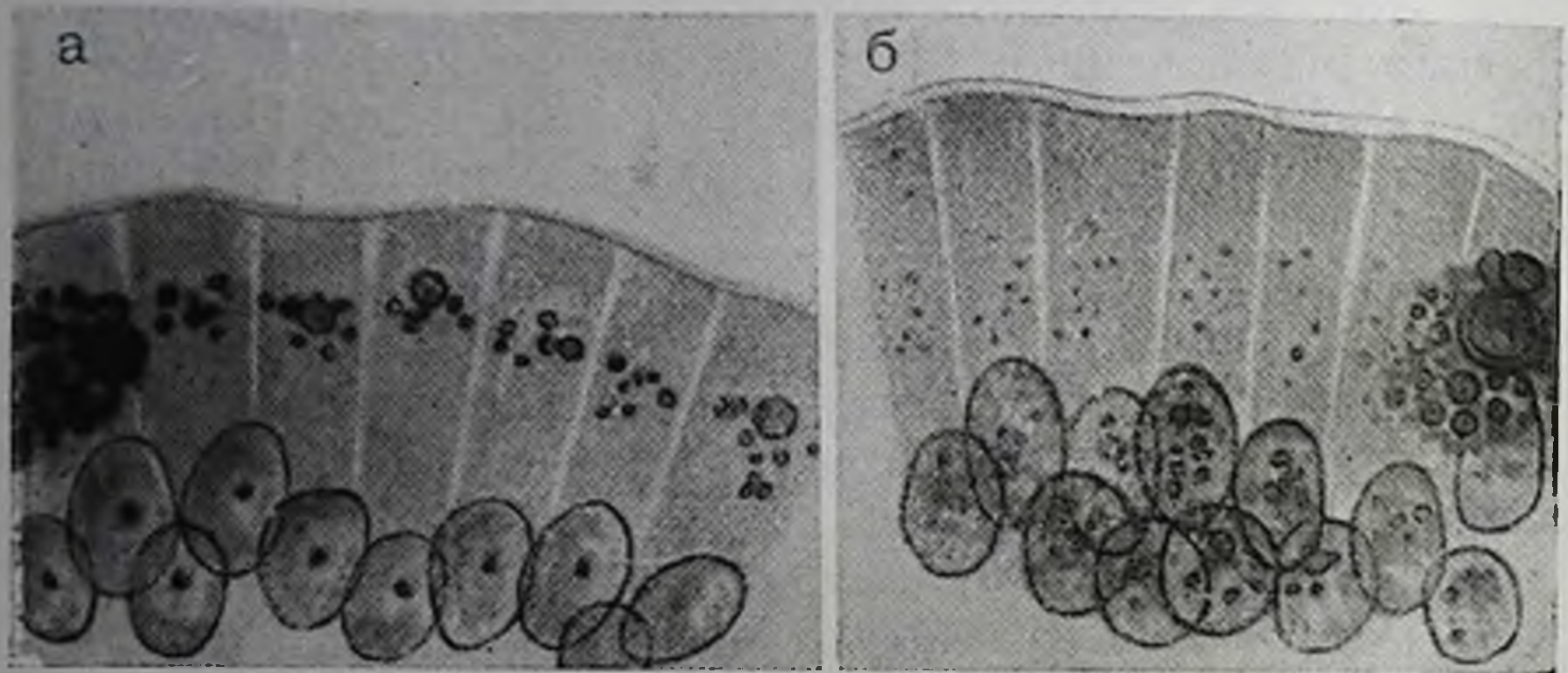


Рис. 110. Гранулярное отложение витального красителя в цитоплазме неповрежденной клетки (а) и при паранекрозе (б) (по Д. Н. Насонову, 1959).

освобождением и выходом из клеток, подвергшихся действию того или иного раздражителя: ионов калия, фосфатов, креатина, некоторых пигментов. Одновременно в клетки из окружающей их среды проникают ионы натрия и хлора. Освобождение электролитов служит причиной появления электронегативности на поверхности клеток.

Все эти изменения в начальной фазе действия раздражителя носят обратимый характер. По прекращении действия раздражителя дисперсность коллоидов цитоплазмы и ядра повышается, вследствие чего свечение цитоплазмы в темном поле и картина структурированности ядер исчезают. Вязкость цитоплазмы снижается, достигая исходной. Повышенная сорбция витального красителя цитоплазмой и ядром устраняется, клетка снова приобретает способность к накоплению и концентрации витального красителя в виде гранул и вакуолей. Проникшие ранее из клетки ионы калия и фосфаты вновь поступают в клетки, содержание в них натрия и хлора нормализуется вследствие выхода этих веществ из клеток в окружающую их среду.

Совокупность описанных неспецифических изменений обозначается термином «паранекроз». Так как любой раздражитель в определенной дозе и при известной продолжительности действия может вызвать гибель клетки, то и действие раздражителей, вызывающих паранекротические явления, следует рассматривать в качестве этапа на пути к смерти клетки (некрозу).

С этой точки зрения паранекроз — состояние, которое может привести клетку к некрозу, но оно отличается от последнего своей обратимостью.

Для паранекроза, как отмечено выше, характерна его неспецифичность, поскольку один и тот же комплекс изменений появляется под действием разнообразных раздражителей. Однако наряду с этими неспецифическими чертами ответной реакции клетки на действие раздражителей имеется и некоторая специфичность. Она проявляется, например, в том, что наиболее обратим паранекроз от наркотиков, а наименее — от ультрафиолетового облучения и ионизирующего излучения. Состояние паранекроза может возникать сразу же при действии раздражителей (термических, механических, электрических) или же по прошествии некоторого латентного периода, как, например, при действии лучистой энергии. В этом случае состояние паранекроза развивается спустя несколько часов или даже суток. Поэтому вероятно, что раздражители типа лучистой энергии вызывают вначале в клетках какие-то другие изменения, а паранекроз возникает вторично, на основе этих изменений. Альтерирующий агент может вызвать денатурацию белков клетки не только непосредственно, но и вторично, путем нарушения нормального хода обмена веществ (Д. Н. Насонов и В. Я. Александров, 1940). Различия в течении паранекроза в зависимости от воздействующего агента изучены В. Я. Александровым (1948).

Последующие работы по паранекрозу позволили уточнить некоторые из изложенных выше данных. Было установлено, в частности, что сорбция витального красителя в ганглиозных и мышечных клетках зависит от их исходного функционального состояния. Под влиянием раздражителя сорбция возрастает лишь в случае, когда ее исходный уровень низкий. Если же он был высоким, то раздражение клеток сопровождается снижением сорбирующих свойств протоплазмы и ядра. При средних исходных значениях окрашиваемости ее уровень под влиянием внешних воздействий не изменяется (Д. Л. Розенталь и А. С. Трошин, 1963).

Уменьшение степени дисперсности коллоидов протоплазмы под действием раздражителей подтверждено и новым методом регистрации светорассеяния. Уловимые этим мето-

дом изменения выражаются раньше, чем другие паранекротические проявления (С. В. Левин, 1960).

Помимо охарактеризованных паранекротических изменений, неспецифическим признаком нарушения функционального состояния клеток под влиянием раздражителей служит сдвиг изоэлектрических точек (ИЭТ) митохондрий, ядрышка и эргастоплазмы. При разнообразных воздействиях их ИЭТ смещается в кислую или щелочную сторону вследствие изменения количества и степени диссоциации фосфорнокислых групп рибонуклеопротеидов (РНП), а также вследствие нарушения прочности связи фосфорнокислых групп РНП с белковыми компонентами (А. Л. Шабадаш, 1958, 1959). Изменение ИЭТ описано при действии на клетки проникающего излучения (А. Л. Шабадаш, 1959), некоторых вирусов, веществ с цитолитическим и цитостатическим действием (А. И. Брауде, 1960).

Под влиянием внешних воздействий в клетках возникает и ряд других цитохимически констатируемых сдвигов; наблюдается, в частности, изменение активности клеточных ферментов. Значительная часть таких сдвигов, как и изменения ИЭТ, носит неспецифический характер.

Изменения активности ферментов, локализованных в митохондриях, описаны рядом авторов. Согласно В. В. Португалову (1959), активность сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы митохондрий быстро изменяется после введения животным сулемы. При этом параллельно развивались два процесса. Один из них приводил к инактивации ферментов и к гибели части митохондрий; при другом процессе активность ферментов остальной части митохондрий, напротив, повышалась. Аналогичные изменения наблюдали в органах животных, подвергнутых рентгенооблучению в смертельной дозе.

Обратимые изменения энзиматической активности наступают и под влиянием воздействий, используемых при эксплантации клеток *in vitro*. При этом в первично трипсионизированных культурах клеток почек обезьян и эпителия амниона человека в первые 3 суток резко снижена активность сукцинатдегидрогеназы, НАД и НАДФ · Н₂-дегидрогеназы, кислой и щелочной фосфомоноэстераз, 5-нуклеотидазы. Затем активность этих ферментов постепенно возрастает (В. Г. Заславский, 1961). Описан ряд гистохимически выявляемых сдвигов, наступающих под влиянием самых разнообразных веществ (в том числе противоопухолевых), ионизирующего излучения, вирусов. Цитохимически выявляемые изменения митохондрий подтверждены и дополнены их электронномикроскопическим изучением, установившим однотипную реакцию митохондрий в виде их набухания, раз-

жизнения и просветления матрикса, изменения числа крист при действии на клетки многих химических, температурных и физических агентов (см. главу III).

Выше отмечалось, что в данной главе мы не ставим своей задачей изложить особенности действия на клетки разнообразных факторов. Несомненно, что под их влиянием в клетках возникает ряд взаимосопряженных изменений, из которых лишь некоторые носят неспецифический характер. Так, явления паранекроза развиваются под влиянием большого числа разнообразных воздействий, включая разные виды излучения. Между тем видимый свет не вызывает фотореактивации тканей, поврежденных рентгеновыми лучами. Это указывает на коренное отличие между действием на клетку ионизирующего и ультрафиолетового излучения (А. Гизе, 1959).

При воздействии ионизирующего излучения в клетках наряду с неспецифическими изменениями наблюдается и характерная для данного состояния ионизация внутриклеточной воды. В результате она распадается с образованием свободных окислительных радикалов и окислителей, подобных перекиси водорода или органическим перекисям.

Совокупность изменений, вызываемых внешним воздействием, носит, как уже отмечено выше, обратимый или необратимый характер. В первом случае по прекращении действия раздражителя жизнедеятельность клетки восстанавливается, во втором случае тяжесть вызванных изменений возрастает, и клетка погибает. Наряду с этим при действии ряда раздражителей, преимущественно слабых или умеренных, проявляется способность клеток адаптироваться к новым условиям существования.

Адаптация представляет широко распространенное в природе явление, касающееся различных уровней организации живой материи. Согласно Б. П. Ушакову (1963), следует дифференцировать собственно клеточные адаптации и клеточные механизмы адаптаций, которые лежат в основе приспособлений, реализуемых более высокими уровнями организации (организменными, видовыми и др). Совокупность обоих явлений рассматривается цитозкологией. Она является специальной областью исследования, на характеристике которой мы не останавливаемся. Отметим лишь, что клеточная адаптация представляет проявление защитной реакции клетки, направленной на ослабление повреждающего действия раздражителя.

Адаптация клетки чаще всего проявляется: 1) прекращением или ослаблением изменений, несмотря на продолжающееся действие раздражителя; 2) увеличением устойчивости к сильным дозам раздражителя на фоне действия того же

раздражителя в слабой дозе; 3) ослаблением повреждающего действия раздражителя при одновременном действии другого; 4) увеличением времени переживания в присутствии слабых доз раздражителя; 5) повышением сопротивляемости к повторному раздражению после ранее имевшегося (Б. П. Ушаков, 1959).

Имеется ряд наблюдений об адаптации растительных клеток. Так, в опытах на *Tradescantia fluminensis* было показано, что предварительное воздействие повышенной температуры (33—36,5°) приводит к повышению теплоустойчивости клеток листа этого растения. В результате движение протоплазмы в таких листьях сохраняется при повторном нагреве до 46—47°, в то время как клетки контрольных половин этих же листьев, не подвергнутых предварительному тепловому воздействию, такую температуру не выдерживают — движение протоплазмы прекращается в них уже при меньшем нагреве. Совокупность ряда сходных опытов позволила заключить, что повышенная теплоустойчивость клеток после ранее произведенного нагревания представляет реакцию на его повреждающее действие. Существенно, что растительные клетки, ранее подвергнутые действию повышенной температуры, становятся более резистентными не только к последующему нагреву, но и к действию спирта, уксусной кислоты, высокого гидростатического давления (В. Я. Александров, 1963). Неспецифическое повышение устойчивости отмечено и при раневом раздражении: у клеток, граничащих с местом пореза на листьях *Samolita persicifolia* и *Gagea lutea*, повышалась устойчивость к высокой температуре и этиловому спирту (Н. Л. Фельдман, 1960).

Адаптация животных клеток изучена недостаточно. Цитоэкология животных является недавно возникшей областью исследования. Однако некоторые из сделанных наблюдений заслуживают определенного внимания. Так, например, отмечено уменьшение повреждающего действия ультрафиолетового облучения клеток почечного эпителия обезьян в культуре ткани после предварительного пребывания при повышенной температуре. Адаптация к изменившимся условиям внешней среды изучена на изолированных мышцах ряда животных. Показано, в частности, что потеря возбудимости изолированных портняжных мышц травяных лягушек в растворе мочевины определенной концентрации (например, 6%) является сравнительно кратковременной. Затем она восстанавливается в результате адаптации мышцы и сохраняется несколько часов (Н. Б. Ильинская, 1960). Наблюдается аккомодация нерва к раздражающему и альтерирующему действию электрического тока (Л. Л. Васильев, 1953).

Несмотря на ограниченность сведений, самый факт адаптации клеток к меняющимся условиям их существования не вызывает сомнений. Однако механизм явления требует дальнейшего углубленного изучения. По мнению В. Я. Александрова (1963), ряд наблюдений, полученных при изучении терморезистентности клеток, удовлетворительно объясняется денатурационной теорией повреждения. Согласно Б. П. Ушакову (1959), в основе механизма адаптаций должны лежать три категории явлений: а) выработка веществ, увеличивающих стойкость белковой структуры клеток; б) усиление ресинтеза белка и замена им денатурированного белка, возникшего под влиянием альтерирующего воздействия; в) наличие реакций, затрудняющих накопление химических агентов в повреждающих дозах.

Изложенные данные об адаптации еще раз подчеркивают сложный характер реакции клеток на внешнее воздействие. Как уже отмечено, эта реакция включает специфический и неспецифический компоненты. Исход реакции определяется совокупностью ряда факторов, среди которых важное значение имеет не только характер воздействия, но и особенности реагирующей системы и, в частности, ее адаптационные способности.

ЛИТЕРАТУРА

- Александров В. Я. Специфическое и неспецифическое в реакции клетки на повреждающие воздействия. Труды Института цитологии, гистологии и эмбриологии, 1948, т. 3, в. 1, 3—82.
- Александров В. Я. Цитофизиологические и цитоэкологические исследования устойчивости растительных клеток к действию высоких и низких температур. Труды Ботанического института АН СССР. Серия IV, т. 16, 1963, 234—280.
- Алов И. А. Очерки физиологии митотического деления клеток. Медгиз, М., 1964.
- Брауде А. И. ДАН СССР, 1960, 130, 2, 433—437.
- Васильев Л. Л. Аккомодация нерва к раздражающему и альтерирующему действию электрического тока. Ученые записки ЛГУ, т. 123, 1953, 56—72.
- Гизе А. Физиология клетки. ИЛ. М., 1959.
- Заславский В. Г. Цитохимическое исследование активности некоторых энзимов в первичных и перевиваемых культурах. Дисс. М., 1961.
- Ильинская Н. Б. ДАН СССР, 1960, 133, 3, 722—726.
- Левин С. В. Цитология, 1960, 2, 4, 489—497.
- Насонов Д. Н. и Александров В. Я. Реакция живого вещества на внешние воздействия. М.—Л., 1940.
- Насонов Д. Н. Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение. М.—Л., 1959.
- Португалов В. В. Опыт изучения митохондрий гистохимическими методами. В кн.: Пластические и восстановительные процессы. М., 1959, 202—208.
- Розенталь Д. Л. и Трошин А. С. Цитология, 1963, 5, 4, 365—378.
- Ушаков Б. П. Цитология, 1959, 1, 1, 35—47.

- Ушаков Б. П. О классификации приспособлений животных и растений и о роли цитозкологии в разработке проблемы адаптации. В кн.: Проблемы цитозкологии животных. Изд. АН СССР. М.—Л., 1963, 5—21.
- Фельдман Н. Л. Влияние раневого раздражения на чувствительность растительных клеток. В кн.: Вопросы цитологии и протистологии. Изд. АН СССР. М.—Л., 1960, 216—223.
- Шабадаш А. Л. Значение цитохимического изучения нуклеопротеидов для характеристики функционального состояния клеток и тканей. Тезисы VI Всесоюзного съезда анатомов, гистологов и эмбриологов. Харьков, 1958, 98—104.
- Шабадаш А. Л. Гистохимический анализ реактивности высших организмов при действии ионизирующего излучения. В кн.: Пластические и восстановительные процессы. М., 1959, 294—302.

XV

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КЛЕТОК

Предыдущие главы были посвящены преимущественно характеристике общих принципов функциональной морфологии клетки. Главным образом внимание было уделено основным компонентам, свойственным самым разнообразным клеточным элементам: их ядру, органоидам цитоплазмы, плазматической оболочке и т. д. При изложении фактического материала были отмечены и некоторые особенности клеток определенных типов, например особенности эндоплазматической сети секреторирующих клеток, специальная дифференциация плазматической оболочки клеток, через которые интенсивно осуществляются обменные процессы, наличие на поверхности определенных клеток ресничек и пр.

Более детальное рассмотрение этих особенностей имеет важное значение, поскольку в целостном организме определенные виды клеток приспособлены к выполнению конкретных функций. Онтогенетическое и филогенетическое развитие организма сопровождается характерной специализацией разных типов клеток, приобретающих комплекс особенностей, в том числе и структурных.

Эмбриональное развитие приводит к возникновению из одной яйцеклетки по-разному дифференцированных клеток, т. е. к клеточной неоднородности (гетерогенности):

появляются клетки будущего кожного покрова, нервной трубки, кишечника и др. Этот процесс клеточной специализации быстро прогрессирует, приводя к возникновению все большего количества разнообразных клеточных элементов, а в дальнейшем и к появлению продуцируемого определенными видами клеток межклеточного вещества.

Различия клеток разных типов весьма отчетливо обнаруживаются при формировании определенных тканей (гистогенез) и построенных из них органов (органогенез). Так, нервные клетки специализируются в направлении восприятия раздражения и его проведения от одной части организма к другой. Эндотелиальные клетки кровеносных капилляров обеспечивают обменные процессы между кровью и прочими тканями. Железистые клетки продуцируют определенного состава вещества, поступающие затем в кровь, в просвет желудочно-кишечного тракта и других органов или на поверхность тела.

Становление и дальнейшее формирование совокупности признаков клеток данного типа составляют сущность процесса клеточной дифференциации. Иными словами, дифференциация представляет процесс, приводящий к клеточной гетерогенности и усиливающий ее.

В ходе дифференцирования отчетливо проявляется ограничение возможных путей дальнейшего развития клеток. В самом начале эмбриогенеза они могут развиваться в разных направлениях, т. е. являются тотипотентными. Убедительным подтверждением данного положения служат опыты с пересадкой различных частей зародыша амфибий. Такие эксперименты показали, что если пересадить материал зачатка центральной нервной системы — нервной пластинки — на брюшную сторону эмбриона ранних стадий развития (стадия ранней гастролы), то трансплантат будет развиваться в таком же направлении, как и окружающие его теперь клетки. Таким образом, на этой стадии клетки могут развиваться не только в обычном, но и в других направлениях. Однако на более поздней стадии развития (поздняя гастрולה) этого не наблюдается: пересаженный участок нервной пластинки будет вне зависимости от нового местоположения давать зачаток центральной нервной системы, т. е. ту структуру, какую он давал бы на обычном для него месте. Приведенные и многочисленные другие опыты свидетельствуют, что в ходе эмбриогенеза в определенной мере закрепляется (детерминируется) направление развития тех или иных клеток. Детерминация пути развития составляет одно из проявлений процесса клеточной дифференциации. При этом детерминация может проявляться, когда морфологических признаков дифференциации еще нет.

Так как в основе всех жизненных проявлений лежит обмен веществ, то дифференцирование должно прежде всего обеспечивать становление типа метаболизма, характерного для клеток данного вида, даже если они морфологически еще не отличаются друг от друга. Таким образом, дифференцирование клеток в биохимическом отношении (на молекулярном уровне — хемодифференциация) предшествует появлению структурных, микроскопически обнаруживаемых признаков данного процесса (Weiss, 1949).

Хорошей иллюстрацией этому служат результаты опытов с зачатком поджелудочной железы 7-дневного эмбриона мыши. Эпителий такого зачатка еще не дифференцирован. Морфологические и даже ультраструктурные признаки дифференциации отсутствуют и при его культивировании в течение 40 часов вместе с мезенхимой. Однако если по прошествии указанного срока отделить мезенхиму и продолжать культивировать один эпителий, то через несколько суток в нем появятся зимогенные гранулы (морфологический признак дифференциации). Они не появятся, если продолжительность предшествующего культивирования эпителия совместно с мезенхимой была меньше 30 часов. Таким образом, в интервале от 30 до 40 часов культивирования в эпителии произошли такие изменения (хемодифференциация), которые обеспечивают последующее формирование морфологических признаков, типичных именно для эпителия поджелудочной железы (Grobstein, 1964). Участки, в которых иммунохимически выявляется белок сердечной мышцы, точно соответствуют области формирования будущего сердца (Grobstein, 1959).

Дифференциация проявляется не только в ходе эмбрионального развития, но и в течение жизненного цикла клеток (см. ниже).

Дифференцированные в определенном направлении клетки характеризуются комплексом типичных для них и взаимокоррелирующих признаков — структурных, функциональных и биохимических.

Это замечательное соответствие формы, функции и метаболизма дифференцированных клеток может быть иллюстрировано огромным числом примеров. Из них мы приведем всего один. Мышечная ткань с ее высокоразвитой способностью к сокращению содержит специальные нитевидные структуры — миофибриллы, построенные из особых сократительных белков.

Клетки разных типов отличаются друг от друга не только характером дифференциации, но и ее степенью. Одни клетки становятся высокодифференцированными (нервные клетки), другие могут оставаться сравнительно малодифференциро-

ванными (определенные виды соединительнотканых и некоторые другие). Малодифференцированные, способные к энергичному размножению клетки, называемые также камбиальными (А. А. Заварзин, 1953), могут затем превращаться в более дифференцированные.

Дифференциацию следует отличать от изменений, происходящих в клетках при временном усилении их функции, например при активации секреторной деятельности железистых клеток. Для таких состояний характерен ряд признаков (усиленная продукция секрета, интенсивное его выведение и др.), которые, как правило, обратимы и исчезают по прекращении действия фактора, вызвавшего их появление. Степень дифференциации клеток при этом не изменяется. Другим примером может служить усиление фагоцитарной активности макрофагов при изменении реактивности организма. При ее повышении наблюдают, в частности, появление крупных макрофагов с особенно хорошо развитыми пищеварительными вакуолями, большим, чем в норме, числом лизосом. Но характер дифференциации макрофагов в таких условиях остается прежним — названные клетки, как и раньше, специализированы в направлении поглощения и переваривания чужеродных организму объектов.

В приведенных двух примерах различия между дифференциацией и временными, обратимыми изменениями легко устанавливаются. Но иногда это связано с большими трудностями, в особенности, если неизвестна причина, вызвавшая временные изменения в состоянии клеток. Помимо того, следует учитывать, что при некоторых условиях клетки способны утрачивать морфологические черты дифференциации и могут также приобретать новые, ранее несвойственные им признаки (см. ниже).

Однако до тех пор, пока это не произойдет, клетки, дифференцированные в определенном направлении, сохраняют всю совокупность характерных для них признаков.

Дифференциация клеток в определенном направлении в соответствии с особенностями их функции находит разнообразное морфологическое выражение и проявляется специализацией формы клеток (например, характерная отростчатая форма нервных клеток), наличием на поверхности определенных клеток ресничек и жгутиков (см. главу XIII), десмосом на контактирующих поверхностях соседних эпителиальных клеток (см. главу VIII), присутствием в протоплазме органоидов специального значения: мио-, тоно- или нейрорфибрилл. В различно дифференцированных клетках может быть неодинаково развит комплекс Гольджи, различия могут касаться числа митохондрий, особенностей эндоплазматической сети, соотношения эндоплазматической сети шерохова-

того и гладкого типа. Различия ядер разных клеток проявляются неодинаковыми размерами, тинкториальными свойствами, количеством ядрышек, характером хроматиновой структуры. Описаны особенности ядер клеток одного и того же типа (эндотелиальных) в разных органах (Я. Л. Рапорт и С. С. Ракова, 1961). Наличие в одних клетках мелкоструктурированных, а в других грубоструктурированных ядер позволяет с известной приближенностью судить о степени гетерохроматизации хромосом. На клетках дифференцирующихся тканей личинок *Xenopus laevis* прослежены изменения числа и размеров ядрышек в процессе дифференциации.

Стабильность и обратимость дифференциации

Согласно излагаемому в данной главе представлению, дифференцированные в определенном направлении клетки характеризуются комплексом биохимических, функциональных и морфологических особенностей, причем дифференциация связана с детерминацией развития. Для понимания ряда процессов, совершающихся в организме в норме и патологии, важное значение имеет выяснение вопроса, является ли дифференциация необратимым процессом или характерным образом специализированные клетки могут утрачивать присущие им признаки, т. е. дедифференцироваться. Переходя к рассмотрению данного вопроса, мы не будем касаться явлений опухолевой трансформации, что имеет общеизвестное самостоятельное значение.

Проблема стабильности или, напротив, обратимости дифференциации трактуется разными авторами неодинаково, в зависимости от используемых критериев. Исходя из морфологических признаков, дифференциацию рассматривают в качестве обратимого процесса (Е. Каудри, 1958, и др.). Основанием для этого служат многочисленные наблюдения возможной утраты клетками присущих им структурных особенностей. Подобное явление наблюдается как в целостном организме, так и при эксплантации. В обоих случаях процесс совершается сходным образом и характеризуется упрощением клеточной организации. Так, например, в тканевой культуре эпителиальные клетки разных органов становятся неотличимыми друг от друга, хотя до эксплантации они обладали различными структурными особенностями. В этих условиях мышечные клетки и волокна теряют миофибриллы, нервные клетки — нейрофибриллы, хрящевые клетки стано-

вятся неотличимыми от фибробластов и т. п. В организме дедифференциация структур может наблюдаться, в частности, в окружности раны при регенерации, а также при деафферентации (Т. А. Григорьева, 1959).

В дедифференцирующихся при посттравматической регенерации клетках двенадцатиперстной кишки мыши особенно резко изменяется эндоплазматическая сеть, увеличивается число рибосом, упрощается организация аппарата Гольджи (И. Б. Токин, 1964).

Значительно труднее ответить на вопрос о возможности дедифференциации, если подразумевать под ней не только упрощение структуры, но и расширение морфогенетической потенции, т. е. способность развития не только в данном, но и в других направлениях. Дедифференциация подобного типа с несомненностью установлена для растительных клеток (Б. П. Токин, 1959). Допускают, что она бывает у амфибий при регенерации. По некоторым данным, пищеварительные, мукоидные и железистые клетки энтодермы зеленой гидры могут дедифференцироваться в интерстициальные, а затем редифференцироваться в книдобласты (Haynes, Burnett, 1964). Но применительно к высшим животным возможность дедифференциации зачастую отрицается.

Действительно, если культивировать *in vitro*, например, эпителий кишки эмбриона цыпленка, то он в морфологическом отношении дедифференцируется. Но при последующей имплантации в переднюю камеру глаза такой эпителий в совокупности с эмбриональными соединительнотканными клетками — фибробластами формирует новую кишечную трубку, причем выстилающие ее эпителиальные клетки имеют вид типичных для слизистой оболочки кишечника. Результаты данного опыта свидетельствуют, что утрата морфологических признаков культивируемым *in vitro* эпителием была временной и не отразилась на морфогенетической потенции эпителия — при реимплантации он превратился в эпителий именно кишечного, а не какого-либо иного типа. По мнению Н. Г. Хлопина (1946), в тканевых культурах наблюдается лишь видимое упрощение структуры, не связанное с возвратом клеток к недифференцированному эмбриональному состоянию. Аналогично мнение С. И. Щелкунова (1960) и других исследователей.

Однако ряд авторов предполагает возможность дедифференциации не только в морфологическом отношении, но и в плане приобретения клетками способности к развитию в необычном направлении. При этом основываются на наблюдениях, показавших изменение не только структуры, но и свойств клеток после пассирования в культуре. Так, например, эпителий радужной оболочки птиц и млекопитающих

в обычных условиях не способен давать новый хрусталик. Но если такой эпителий предварительно культивировать *in vitro*, затем имплантировать в глаз, то пересаженные эпителиальные клетки сформируют новый хрусталик. В других опытах было показано, что хрящевые клетки куриных эмбрионов утрачивают в культуре ткани не только морфологические особенности, но и способность синтезировать хондроитинсульфат. Такие дедифференцированные клетки при реимплантации животным превращаются уже не в хрящевые, а в жировые. Следует, однако, заметить, что упомянутые и сходные с ними опыты встретили возражения методического порядка. По-разному можно интерпретировать результаты экспериментов, в которых культивированные *in vitro* эмбриональные фибробласты при имплантации в глаз совместно с культурой эпителия давали не только фибробласты, но также мышечные и эндотелиальные клетки. Это можно объяснить приобретением фибробластами в культуре плюрипотентности. Но не исключено, что использованная культура содержала не только фибробласты, но и родоначальные формы мышечных и эндотелиальных клеток, однако в культуре их нельзя было различить по внешнему виду вследствие приобретения ими одинакового строения.

Резюмируя изложенное, следует признать несомненно доказанной дедифференциацию лишь в морфологическом отношении. Возможность приобретения специализированными клетками новых свойств и больших потенций развития является спорной. Такую возможность нельзя полностью отрицать, но для признания ее нужны дополнительные доказательства.

В дальнейшем экспериментальном изучении нуждается и явление клеточной метаплазии, т. е. феномен превращения специализированных клеток одного типа в клетки другого. Этим клеточная метаплазия отличается от тех превращений, при которых новые типы клеток возникают за счет дифференциации в необычном направлении камбиальных малодифференцированных клеток. Примером такой так называемой тканевой метаплазии может служить образование участков хряща в мышце. При этом хрящ образуется не вследствие превращения мышечных элементов в хрящевые, а благодаря превращению в последние малодифференцированных соединительнотканых камбиальных клеток.

Клеточная метаплазия наблюдается у амфибий, у которых клетки радужной оболочки могут сформировать новый хрусталик, превращаясь при этом в хрусталиковые волокна. Пигментный эпителий саламандр начинает усиленно пролиферировать после удаления всей сетчатки; в результате появляются более интенсивно и слабее пигментированные

клетки. Первые дают пигментный эпителий, вторые превращаются в чувствительные клетки сетчатки и ее целостность полностью восстанавливается.

У высших животных клеточная метаморфоза проявляется в меньшем объеме, и вполне достоверные признаки превращения одних высокоспециализированных клеток в другие неизвестны. Однако некоторые соединительнотканые клетки в пределах данной тканевой системы могут трансформироваться в другие клеточные формы. Так, например, уже давно было отмечено, что лимфоциты при воспалении, мигрируя из кровотока в ткани, вначале приобретают сходство с моноцитами, а затем превращаются в типичные макрофаги. Они обладают выраженной фагоцитарной активностью, которой лишены лимфоциты. По окончании воспаления макрофаги, согласно этим наблюдениям, способны превращаться в фибробласты (А. А. Максимов, 1918).

Приводятся и некоторые другие случаи клеточной метаморфозы. Тем не менее у млекопитающих, по-видимому, не наблюдается превращения клеток — производных одной эмбриональной закладки в производные другой.

Факторы дифференциации

Интимные механизмы дифференциации клеток изучены недостаточно, и в этой области господствуют пока различные гипотезы. Давно высказаны соображения, что дифференциация клеток связана с заложенной в хромосомах генетической информацией. Согласно первоначальным представлениям, допускалось, что генетические основы дифференцировки заключаются в неравномерном распределении между дробящимися бластомерами генетической информации. Однако позднее эти представления были оставлены, так как стало известно, что клетки организма получают путем митоза один или несколько полных наборов хромосом.

На смену пришла теория дифференцировки, согласно которой в яйце находится вся генетическая информация об организме, а различная дифференцировка клеток, содержащих одинаковые хромосомные наборы, связана с обратимыми изменениями активности генов. При этом предполагали, что на тех или иных стадиях развития в разнокачественно дифференцирующихся клетках изменяется активность разных генов. Поэтому реализуется различная часть генетической информации, заложенной в хромосомах яйца. Допускали, что изменения активности генов связаны с первоначальными изменениями обменных процессов цитоплазмы,

которые возникают уже в процессе дробления. Таким образом, согласно данной гипотезе, особенности обменных процессов в разных клетках приводят к неодинаковому функционированию в них одних и тех же генов.

Иными словами, реализация той или иной части генетической информации, заложенной в клетке, в определенной мере зависит от внешних по отношению к генетическому аппарату влияний.

Применительно к эмбриональному развитию в числе этих влияний известное значение придают так называемой ооплазматической сегрегации. Под последней понимают более или менее избирательное накопление веществ в различных участках цитоплазмы ооцита.

Уже давно было замечено, что яйцеклетки животных полярны, причем ядро расположено эксцентрично, как правило, вблизи апикального полюса. Желток накапливается главным образом в определенных частях яйца, например в вегетативном полушарии теллецитальных яиц. Согласно результатам последующих наблюдений, РНК и капельки жира концентрируются в разных половинах яйцеклеток млекопитающих. Неравномерность расположения включений цитоплазмы в ряде случаев более отчетливо проявляется уже после оплодотворения.

В результате ооплазматической сегрегации вещества цитоплазмы исходной материнской клетки — ооцита — неравномерно распределяются между дочерними бластомерами. Природа таких веществ точно не установлена. Предполагают, что в число их входят макромолекулы, например молекулы белка и нуклеиновых кислот (Х. Равен, 1964). По данным этого автора, органоиды цитоплазмы ооцита при его дроблении по-разному распределяются между бластомерами. Неодинаковое поступление протоплазматических компонентов ооцита в разные бластомеры определяет особенности их метаболизма, а это в свою очередь вызывает дифференцированную активацию неодинаковых генов в разных бластомерах.

Согласно Х. Равен (1964), даже некоторые видоспецифические признаки, возникающие на более поздних стадиях развития, могут частично или полностью определяться факторами, локализованными в цитоплазме недробящегося яйца, т. е. цитоплазматической морфогенетической информацией. Локальное накопление цитоплазматических веществ, а также смещение ядер и веретен дробления в ооцитах в свою очередь регулируются кортикальной информацией, заложенной в кортикальном слое оплодотворенного яйца. Поэтому кортикальная информация играет важную роль на ранних стадиях химической дифференциации, определяя раз-

деление яйца на более или менее правильную мозаику клеток, отличающихся по составу протоплазмы. Этим подготовляются условия для участия ядерных генов в процессе развития.

Анализ интимного механизма процесса дифференциации представляет особые трудности. В последние годы в данном отношении наметились новые перспективы, с одной стороны, в связи с развитием представлений о становлении нового типа обмена дифференцирующихся клеток, а с другой — в связи с современными воззрениями о роли нуклеиновых кислот в белковом синтезе. Важнейшей вехой на этом пути явилось открытие кодирующей функции ДНК и передачи информации в точки белкового синтеза — рибосомы посредством информационной РНК. Как отмечено выше, указанный основной механизм передачи в направлении ДНК — РНК — белок дополняется и механизмом так называемой обратной связи. Данные представления об основных закономерностях белкового синтеза с полным основанием рассматриваются в качестве основополагающих при расшифровке явлений дифференциации клеток.

Однако пока мы не располагаем необходимыми сведениями для конкретизации этих общих представлений применительно к механизму клеточной дифференциации.

В настоящее время ряд авторов основывается на концепции, что дифференциация клеток в данном направлении связана с функционированием определенных генов, причем их активация наступает в зависимости от особенностей цитоплазмы данных клеток или от получаемых извне стимулов (индукция — см. ниже). Так, согласно Signoret (1964), в ходе первых митозов оплодотворенной яйцеклетки образуются тождественные ядра, содержащие пока еще не функционирующие гены. Особенности цитоплазмы разных клеток обуславливают последующие неодинаковые изменения хромосом. В некоторых клетках специфические белки соединяются с определенными участками ДНК хромосом, образуя при этом функционирующие нуклеопротеидные комплексы, т. е. активные гены. В других клетках иные вещества, например гистоны, присоединяются к другим участкам ДНК, в результате чего образуются неактивные гены. Прогрессирующая дифференциация хромосом приводит к функционированию ряда генов. Их активность вызывает изменения цитоплазмы соответствующих клеток. Допускается взаимодействие разных генов, причем активация одних генов вызывает активацию определенных других. Это может происходить под влиянием факторов внешней среды (Sonnenborn, 1964).

По мнению Х. Равена (1964), дифференцированная активация определенных генов обусловлена воздействием на

ядерное вещество цитоплазматической и кортикальной информации (см. выше). В принципе аналогичные воззрения о начальных этапах дифференциации клеток развивает и А. А. Нейфах (1962), выделяющий три этапа ядерно-плазматических отношений в ходе дифференцирования. На первом из них развитие определяется ооплазматической сегрегацией или характером внешних воздействий (индукцией). В результате клетка начинает развиваться в определенном направлении, причем дальнейший ход процесса (второй этап) совершается под влиянием каких-то внутренних механизмов, возможно путем взаимодействия типа регулятор — оператор — цистрон (см. главу X). Третий этап — установление стабильности дифференциации — объясняется хромосомными (ядерными) или цитоплазматическими особенностями. В литературе последних лет неоднократно отмечено важное значение избирательного торможения или стимуляции генетического материала цитоплазмой либо отдельными ее компонентами (Becker, 1964, и др.).

Косвенным подтверждением этих представлений служит ряд цитологических исследований, выполненных в последние годы на политенных хромосомах и хромосомах типа ламповых щеток. Этими исследованиями были продемонстрированы изменения активности разных участков хромосом в процессе развития (И. И. Кикнадзе, 1961, 1963). Функционально активные участки хромосом характеризовались деспирализацией хромонем и образованием пуфов. Наоборот, инактивация участка хромосом при выключении их из метаболических процессов сопровождалась спирализацией (гетерохроматизацией) этого участка. Изучение последовательных стадий развития яиц циклопа, лосося, форели и сига показало, что на разных стадиях развития в различных клетках закономерно изменяется локализация спирализованных и деспирализованных участков хромосом (А. А. Прокофьева-Бельговская, 1960).

Допускается, что соотношение активных и неактивных участков хромосом в зависимости от степени их спирализации обусловлено соотношением в клетках ионов, в частности ионов натрия и калия (В. Л. Рыжков, 1964). Фактическим основанием для данного предположения послужили результаты опытов, показавшие, что активация отдельных участков хромосом насекомых с помощью гормона экдизона обусловлена не непосредственным действием экдизона на хромосомы, а его влиянием на проницаемость ядерной оболочки для ионов натрия и калия. Именно они воздействуют на хромосомы, вызывая активацию разных их участков.

Есть основания полагать, что наступившая активация генов обуславливает синтез в клетках специфического белка,

т. е. биохимическую дифференциацию. При этом Я. Г. Эренпрейс (1963) исходит из представления, что дифференцирование как процесс, обусловленный синтезом новых разновидностей белка, сопряжено с началом синтеза в ядре РНК. Под влиянием информационной РНК, начинающей поступать в цитоплазму, усложняется конфигурация РНК рибосом. Это рассматривается в качестве общей и определяющей черты дифференциации любых клеток. Частные же их особенности зависят от различий конфигурации РНК рибосом. Вещества с индуцирующим действием не вносят в клетку матрицу для становления нового типа синтеза, а лишь стимулируют ее образование, когда в клетке уже созданы необходимые для этого предпосылки, т. е. когда из ядра в цитоплазму может поступать информационная РНК.

Известным подтверждением роли информационной РНК в дифференцировании служат результаты опытов с воздействием актиномина на культивируемый *in vitro* эпителий эмбрионального зачатка поджелудочной железы мыши. Оказалось, что результаты опыта неодинаковы в зависимости от продолжительности культивирования эпителия до внесения актиномина. Последний оказывает выраженное действие на клетки, культивированные менее 72 часов, и последующая дифференциация таких клеток приостанавливается. По прошествии 72 часов действие актиномина менее выражено, и эпителий не утрачивает способности к последующему синтезу гранул зимогена. По-видимому, посредством информационной РНК на рибосомы таких клеток уже поступила информация, необходимая для синтеза в цитоплазме специфического фермента, и нарушение функции ДНК актиномицином не приостанавливает дифференцирования (Grobstein, 1964).

Изложенные представления не исчерпывают, однако, всего многообразия факторов дифференциации. Следует, в частности, указать на значение взаимодействия дифференцирующихся тканей, о чем свидетельствует обширный экспериментальный материал. Так, при совместной эксплантации в глаз клеток эпителия и эмбриональной соединительной ткани (мезенхимы) зачатка кишечника эмбриона цыпленка эпителий дифференцируется нормально. Если же эпителий выращивать без мезенхимы, то он не дифференцируется и вскоре погибает. Эпителий кожи (эпидермис), помещенный в культуру ткани, постепенно теряет структурные признаки дифференциации. Дедифференциация эпидермиса замедляется при его культивировании совместно с соединительно-тканной основой кожи (дермой).

Для выяснения причин и характера указанного влияния большое значение имеет анализ явления так называемой

эмбриональной индукции. Еще в начале XX века была установлена связь между развитием глаза и хрусталика. В ходе эмбрионального развития глазной зачаток в виде глазного бокала образуется как выпячивание мозга. Находящийся в непосредственной близости от глазного бокала участок эктодермы (наружный листок зародыша на ранней стадии эмбриогенеза) превращается в хрусталик. Если удалить этот участок эктодермы и заменить его участком эктодермы с другой части зародыша, то пересаженный участок также превратится в хрусталик. Если же глазной бокал пересадить под эктодерму, в необычную часть зародыша, то хрусталик образуется в новом месте (Spemann, 1936).

Однако стоит отделить какой-либо чужеродной тканью глазной бокал от эктодермы и хрусталик не образуется. На основании данного опыта можно заключить, что развитие глаза определяется системой, состоящей из двух компонентов: активного компонента — индуктора, который представлен глазным бокалом, определяющим развитие эктодермы, и реагирующей системой — эктодермой, превращающейся под влиянием индуктора в хрусталик. Позднее был открыт и ряд других индукторов. Так, например, установлено, что развитие нервной пластинки (зачатка нервной системы) происходит под влиянием среднего зародышевого листка — мезодермы.

Рядом последующих исследований было показано, что во всех этих случаях происходит не одностороннее влияние индуктора, а взаимодействие, взаимное влияние развивающихся зачатков. Если развивающийся глазной бокал оказывает формативное влияние на прилежащий участок эктодермы, которая при этом дифференцируется в хрусталик, то последний в свою очередь влияет на формирование глазного бокала.

Выпячивание глазного пузыря может осуществляться и в отсутствие хрусталика, но в этом случае оказывается недоразвитым стекловидное тело, а оболочки глаза непропорционально утолщены. Если глазной бокал, отрезанный от основания, повернуть на 180° , то в нем разовьются две сетчатки: одна из внутреннего листка, обращенная теперь к мозгу, а другая — из наружного листка, обращенная к эктодерме. Вторая сетчатка на необычном месте развивается под влиянием хрусталика.

Приведенные и многие другие аналогичные наблюдения убеждают, что эмбриональный организм представляет целостную систему, в котором все развивающиеся закладки оказывают определенное формативное влияние друг на друга. Взаимосвязь закладок в процессе развития является одним из важнейших факторов их дифференцирования.

Для последующего развития представлений об эмбриональной индукции большое значение имели результаты опытов, которые показали, что убитые ткани зародышей также способны индуцировать развитие нервной пластинки. На основании этих наблюдений возникло предположение, что индуцирующее влияние связано с переходом каких-то веществ из мезодермы и эти вещества способствуют развитию нервной пластинки. Данное наблюдение было убедительно подтверждено экспериментами, в которых индуктор и реагирующую систему отделяли пористым веществом или непроницаемой для жидкости пластинкой. В первом случае индукция происходила; во втором, когда поступление вещества от индуктора к реагирующей системе исключалось, она не проявлялась.

Позднее было установлено, что индукция может происходить и вне организма, причем практически все убитые ткани зародыша, как и ткани любых взрослых животных, могут вызывать индукцию (Holtfreter, 1933). Оказалось также, что разные ткани взрослых животных обладают различным индуцирующим действием. Вместе с тем один индуктор может стимулировать развитие разных тканей. Поэтому возникло предположение, что индуцирующие агенты представляют не одно, а несколько веществ с определенной специфичностью действия. Реакция клеток на вещества разных тканей неодинакова. Так, например, вещества, содержащиеся в обработанных спиртом печеночных клетках, вызывают образование нервной ткани. После обработки спиртом костного мозга получают вещество, действующее на развитие производных мезодермы, а комбинированное применение веществ из печени и костного мозга стимулирует развитие спинного мозга (Grobstein, 1959).

Появление таких специфически действующих веществ на относительно ранних этапах эмбриогенеза, вероятно, связано с особым дифференцированием зачатков различных органов (Г. В. Лопашов, 1963).

Природа веществ, обладающих индуцирующими способностями, недостаточно выяснена. Согласно Niu (1958), основное значение имеет РНК этих веществ. Специфичность индукции связана с РНК тканей и соответствует типу тканей, из которой она была извлечена. Белок же, имеющийся в индуцирующем веществе, является лишь носителем РНК и не определяет специфичности индукции. Если обработать РНК из печени клетки асцитной карциномы, а затем привить их мышам, то частота появления опухолей уменьшается вследствие дифференциации опухолевых клеток в клетки, напоминающие печеночные по отсутствию злокачественности и по способности синтезировать сывороточный альбумин. Под

влиянием РНК в опухолевых клетках наступает синтез энзимов, типичных для нормальных клеток (Niu, 1963).

Эти данные критически оценены рядом авторов. Согласно Yamada (1962), индуцирующие агенты являются в основном белковыми. При этом мезодермальный агент не содержит нуклеиновых кислот, невrogenный же представляет рибонуклеопротеид. Однако невральные индукции удается получить и при воздействии одним белковым агентом.

Вместе с тем добавление РНК из дрожжей восстанавливает индуцирующее влияние глазных плакод на развитие хрусталика после теплового шока, который у нейрул *Rana tigrina* устраняет индукцию (Bose, Chattersee, 1964). Однако синтез гемоглобина в эксплантатах бластодисков куриных эмбрионов усиливается под влиянием РНК как цыпленка, так и кролика. Таким образом, в данных опытах не обнаружено специфической реакции клеток на добавленную РНК (Malpoix, 1964).

Итак, если самый факт индуцирующих влияний не вызывает сомнений, то природа индукторов требует дальнейшего выяснения, учитывая, в частности, что свойствами индуктора могут обладать вещества с мало специфическим действием (стероиды, полициклические углеводы и др.).

В дополнение к изложенному необходимо отметить, что дифференциация зависит не только от взаимодействия тканей, но и от массы самой дифференцирующейся ткани. В этом отношении демонстративны следующие наблюдения. Область будущих сомитов (зачаток мышц) от амблостом после 24-часового содержания в физиологическом растворе пересаживали в вентральную эктодерму. Если трансплантировали один участок будущих сомитов, то в мышцу превращалось всего около 1% трансплантатов. Если же имплантировали совместно два таких участка, то мышца развивалась в 86% случаев, а при совместной имплантации 10 участков — в 100%. В другом опыте на хорионаллантоисную оболочку куриных эмбрионов совместно или отдельно помещали по 16 кусочков ткани области будущей нервной трубки. При совместном помещении эксплантатов в 30% случаев дифференцировалась нервная ткань. Если такое же число кусочков разместить на поверхности хорионаллантоисной оболочки отдельно, то ни в одном случае аналогичный эффект не наступит.

Как реализуется данное влияние, мы пока не знаем. На основании сопоставления с изложенными выше данными можно предположить, что механизмы стимулирующего действия массы ткани на дифференциацию клеток этой же ткани принадлежностью в принципе аналогичен наблюдаемому при взаимодействии разных тканей, т. е. он также

основан на биологическом действии выделяемых клетками веществ с индуцирующим действием. Различия же между сопоставляемыми двумя явлениями определяются реагирующей системой — в одном случае это клетки, отличающиеся от продуцирующих индуктор, во втором — система не гетерогенна, а состоит из клеток одного типа.

Оба фактора — индуктивное влияние одной ткани на другую и масса дифференцирующейся ткани — взаимосвязаны. Это отчетливо проявляется на примере дифференцирования эмбрионального зачатка поджелудочной железы. Если такой эпителиальный эмбриональный зачаток от 11-дневного эмбриона мыши поместить в культуру ткани, то эпителий дифференцируется (с появлением в нем зимогенных гранул) лишь в присутствии мезенхимы. Однако ее индуктивное влияние необходимо на протяжении первых 40 часов культивирования. По прошествии этого срока мезенхима может быть удалена, и это уже не повлияет на дифференциацию эпителиального зачатка. Но если этот зачаток по прошествии 40 часов культивирования с мезенхимой не только отделить от последней, но и разрезать на 8 фрагментов, то дифференциация эпителия продолжится лишь в том случае, если все 8 фрагментов культивировать совместно. Если же фрагменты отделить один от другого, т. е. уменьшить массу дифференцирующейся ткани, то гранулы зимогена в эпителии фрагментов не появятся (Grobstein, 1964).

Из числа других факторов, влияющих на дифференциацию, следует отметить значение питания. Это отчетливо прослеживается на примере зависимости состояния эпителия от наличия витамина А. При избытке его ороговевающий эпителий превращается в продуцирующий слизь и даже в реснитчатый (тканевая метаплазия). Клетки зачатка нервной системы — нервной трубки и вентральной части эктодермы — могут превратиться в пигментообразующие лишь в присутствии фенилаланина.

Роль нервной системы и эндокринных факторов в дифференциации изучена недостаточно. Из изложенных выше данных следует, что дифференциация может происходить и в отсутствие нервных влияний, например в культуре ткани. Вместе с тем нужно учитывать факт утери специфических морфологических признаков поперечно-полосатых мышечных волокон при денервации и ряда других элементов — при деафферентации (см. выше). Хотя механизм подобных влияний не выяснен, однако принципиальное значение этого обстоятельства очевидно (Grobstein, 1959). Одной из пока крайне немногочисленных иллюстраций влияния эндокринных факторов служит стимулирующее действие гормона щитовидной железы на метаморфоз и со-

путствующую дифференциацию тканей у бесхвостых амфибий. Отметим также данные о влиянии гонадотропных гормонов гипофиза на созревание ооцитов ряда представителей позвоночных *in vitro* (Т. А. Детлаф, 1964) и *in vivo* (М. М. Завадовский, 1963).

Коль скоро цитоплазматическая информация накапливается в протоплазме развивающегося ооцита в течение обменных процессов, то на накопление этой информации не могут не влиять все факторы, которые обеспечивают в организме полноценное развитие ооцита. Значение нейро-гуморальной регуляции подобных трофических процессов не нуждается в комментариях.

При всей значимости изложенных данных, в частности данных об индуцирующих влияниях, особого внимания заслуживает вопрос, что происходит в реагирующей системе под влиянием индуктора, каковы точки приложения его действия в клетке и влияет ли он первично на различные звенья цитоплазматического синтеза или на ядерное вещество (Ж. Браше, 1961; Л. Саксен и С. Тойвонен, 1963).

Пока нет вполне достоверных сведений о воздействии индукторов на ядерное вещество. Некоторые искусственные индукторы типа стероидов, судя по данным флюоресцентной микроскопии, первично накапливаются в цитоплазме. Поэтому допускается их плазматропный характер (К. Уоддингтон, 1964).

Резюмируя изложенное, приходится признать недостаточность фактического материала по ряду затронутых вопросов. Однако он быстро пополняется, и есть все основания ожидать быстрого прогресса наших знаний о механизме важнейшего процесса дифференциации.

ЛИТЕРАТУРА

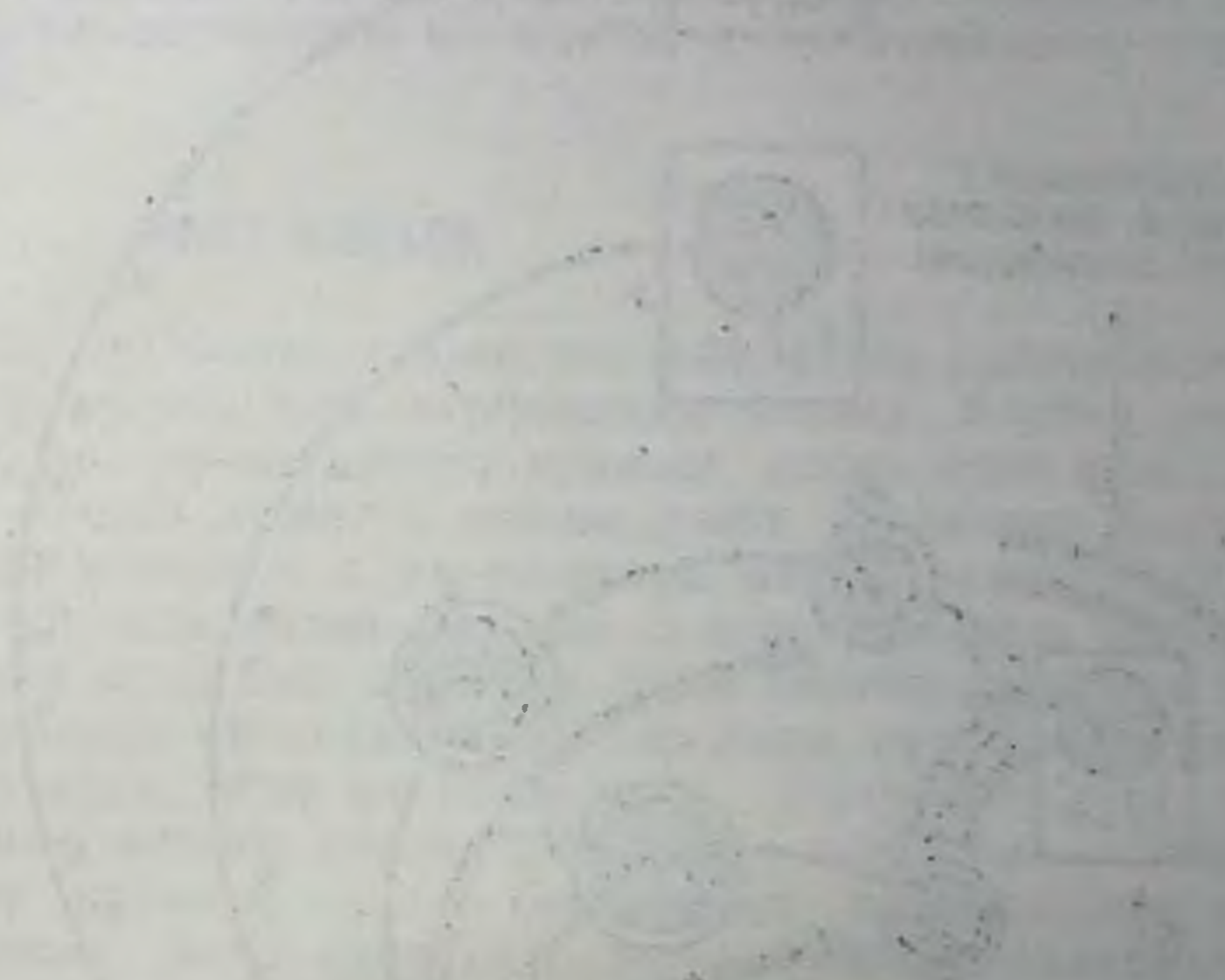
- Браше Ж. Биохимическая эмбриология. ИЛ. М., 1961.
Григорьева Т. А. Арх. анат., гистол., эмбриол., 1959, 36, 3, 3—12.
Гробштейн К. Индуктивное взаимодействие в процессе развития тканей. В кн.: Успехи в изучении рака. Т. 4, ИЛ. М., 1958, 210—237.
Детлаф Т. А. Предисловие к кн.: Оогенез. Изд. «Мир». М., 1964.
Заварзин А. А. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. М.—Л., 1953.
Завадовский М. М. Теория и практика гормонального метода стимуляции многоплодия сельскохозяйственных животных. Сельхозгиз. М., 1963.
Каудри Е. Раковые клетки. ИЛ. М., 1958.
Кнорре А. Г. Дифференцировка клеточного материала эмбриональных зачатков. Дисс. Л., 1948.
Лопашов Г. В. Предисловие к кн.: Л. Саксен, С. Тойвонен. Первичная эмбриональная индукция. ИЛ. М., 1963.
Максимов А. А. Основы гистологии. Изд. Риккер. П., 1918.

- Медведев Ж. А. Биосинтез белков и проблемы онтогенеза. Медгиз. М., 1963.
- Нейфах А. А. Проблема взаимоотношений ядра и цитоплазмы в развитии. Изд. АН СССР. М., 1962.
- Равен Х. Оогенез. Изд. «Мир». М., 1964.
- Рапопорт Я. Л., Ракова С. С. К морфологической характеристике ядер эндотелия капилляров разных органов. В сб.: Гистогематические барьеры. Изд. АН СССР, М., 1961, 345—351.
- Рыжков В. Л. Предисловие к кн.: К. Уоддингтон. Морфогенез и генетика. Изд. «Мир». М., 1964.
- Саксен Л., Тойвонен С. Первичная эмбриональная индукция. ИЛ. М., 1963.
- Токин Б. П. Регенерация и соматический эмбриогенез. Л., 1959.
- Токин И. Б. ДАН СССР. 1964, 156, 5, 1185—1188.
- Уоддингтон К. Морфогенез и генетика. Изд. «Мир». М., 1964.
- Хлопин Н. Г. Общебиологические и экспериментальные основы гистологии. Изд. АН СССР. М.—Л., 1946.
- Щелкунов С. И. Арх. анат., гистол., эмбриол., 1960, 7, 3—14.
- Эренпрейс Я. Г. Роль нуклеиновых кислот в дифференцировке и малигнизации. Изд. АН ЛССР. Рига, 1963.

- Becker H. Naturwissenschaften, 1964, 51, 9, 205—211.
- Bose A., Chattersee A. Naturwissenschaften, 1964, 51, 10, 249—250.
- Flickinger R. Science, 1963, 141, 3581, 608—614.
- Grobstein C. Differentiation of vertebrate cells. В кн.: The Cell. Ed. by Brachet and Mirsky. Acad. Press. New York, 1959, 437—496.
- Grobstein C. Science, 1964, 143, 3607, 643—649.
- Holtfreter I. Naturwissenschaften, 1933, 21, 766—770.
- Haynes J., Burnett A. Science, 1964, 142, 3598, 1481—1483.
- Malpoix P. Nature, 1964, 203, 4944, 520—521.
- Niu M. C. Anat. Rec., 1958, 131, 4, 585—598.
- Niu M. C. Develop. Biol., 1963, 7, 379—393.
- Signoret J. Ann. biol., 1964, 3, 3—4, 163—182.
- Sonneborn T. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1964, 51, 915—929.
- Sprengel H. Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung. Springer, Berlin, 1936.
- Weiss P. Problem of cellular differentiation. Proc. Nat. Cancer Conf., 1949, 1, 50—60.
- Yamada T. J. Cell. Comp. Physiol., 1962, 60, 1, 49—61.

XVI

ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ КЛЕТКИ



Жизненный цикл клетки — это период ее существования от момента образования (в результате деления материнской клетки) до собственного ее деления или до смерти клетки.

Одни клетки способны размножаться в течение всей жизни организма, другие утрачивают эту способность. Таким образом, жизненный цикл клетки может быть или ограничен двумя последовательными делениями, или может начинаться с деления и заканчиваться старением и смертью клетки. Выше (см. главу XI) мы уже говорили, что основная форма деления клеток — это митоз. Деление является лишь частью всего жизненного цикла клетки. В быстро делящихся клеточных популяциях каждый следующий цикл деления начинается сразу после окончания предыдущего. В этом случае митотический цикл почти совпадает со всем периодом существования клетки, т. е. с ее жизненным циклом. На рис. III дана схема взаимоотношений между митотическим циклом и жизненным циклом клетки. В период между делениями — в интерфазе (или после деления, если клетка в дальнейшем не будет делиться) — клетка растет, в ней происходят процессы дифференцирования, в результате которых она приоб-

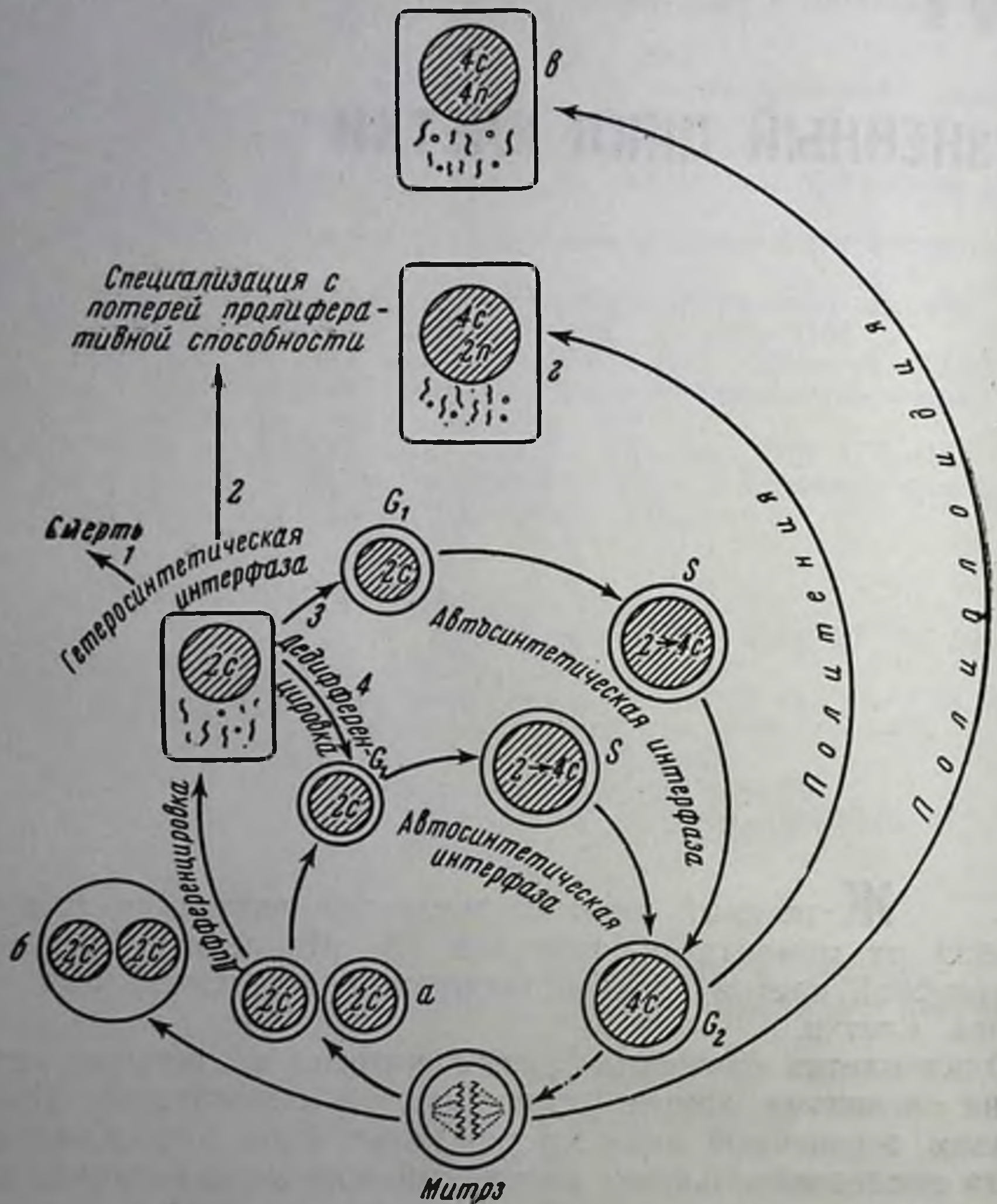


Рис. III. Схема взаимоотношений между митотическим циклом и жизненным циклом клетки (из Цанева и Маркова, 1964).

Внутренний круг представляет цикл размножения клеток, начинающих подготовку к новому митотическому циклу сразу после завершения деления. Показан возможный исход митотического цикла; а — образование двух новых (дочерних) клеток; б — деление ядра без разделения клеточного тела — образование многоядерной клетки; в — протекание митоза только до стадии метафазы без расхождения хромосом — полиплоидия; г — редупликация ДНК и увеличение клеточной массы без вступления в митоз — политения. На внешнем круге представлена дифференцирующаяся клетка с возможными исходами дифференцировки. 1 — смерть клетки; 2 — окончательная специализация с потерей способности клетки к митотическому делению; 3 — вступление клетки в цикл деления без дедифференцировки; 4 — дедифференцировка с последующим вступлением клетки в митотический цикл. 2с и 4с — диплоидное и тетраплоидное количество ДНК; 2n и 4n — диплоидный и тетраплоидный набор хромосом.

ретает определенную структуру и становится опособной к выполнению специальных функций (тетеросинтетическая интерфаза). В интерфазе, однако, а именно в препрофазе, может осуществляться также и подготовка к делению (автосинтетическая интерфаза). Таким образом, интерфаза — основная часть жизненного цикла клетки. Здесь мы остановимся на росте клеток, процессах их обновления, старения и смерти; дифференцированию же клеток была посвящена предыдущая глава.

РОСТ КЛЕТОК

Обычно только что возникшие клетки имеют меньшие размеры, чем материнская клетка. Клетки растут, видимо, до определенного предела, после чего они делятся. Рост клеток лежит в основе роста организма наряду с делением клеток и с увеличением массы межклеточных образований (последнее связано с деятельностью клеток). Еще в конце прошлого столетия было установлено, что различия в размерах организмов обусловлены главным образом числом клеток, а не их размерами. Отмечено, что наиболее крупные клетки характерны для хвостатых земноводных, менее крупные — для бесхвостых земноводных и двоякодышащих рыб, средними по размерам являются клетки млекопитающих и более мелкими — клетки костистых рыб и птиц. Неоднородные данные были получены при попытке найти зависимость между величиной клеток и общим размером тела, возрастом, полом, физиологическим состоянием организма и т. д. Оказалось, что границы варьирования размеров клеток относительно меньше, чем размах изменчивости величины организмов. Были обнаружены видовые особенности величины клеток. Так, Т. Бовери показал, что эпителиальные клетки языка человека гигантского роста и карлика одинаковой величины и не отличаются от размеров этих клеток у людей нормального роста. В. Якоби (1925), применяя к изучению размеров клеток вариационно-статистический метод, установил, что в пределах ткани имеются группы различных по размерам клеток. Так, определяя объемы ядер печеночных клеток белых мышей, он нашел, что в одноядерных клетках имеются три размерных класса, в которых наблюдается кратное увеличение объема ядра. Подобное же увеличение общего объема ядер наблюдалось и в двухъядерных клетках. При этом оба ядра с минимальными объемами соответствовали второму классу одноядерных клеток. В. Якоби ввел понятие не только клеточных классов ($V^1, V^2, V^4, V^8 \dots$), но и ядерных классов ($K_1, K_2,$

$K_4, K_8 \dots$). Пользуясь предложенными им символами, мы можем представить себе, например, класс V^2 с одним ядром K_2 или тот же класс V^2 с двумя ядрами — $2K_1$. Исходя из этих данных, Е. М. Вермель (1935) пришел к заключению, что постоянство размеров клеток заключается в постоянстве минимальной величины и кратности ей всех остальных размерных групп клеток. Исследования по полиплоидии, начиная с работ Т. Бовери и И. И. Герасимова, обнаружили зависимость размеров клеток и их ядер от количества в клетке хромосом. Сопоставление плоидности с размерами ядер (Beams и King, 1942) показало, что различные классы, установленные Jacobí соответствуют различным степеням плоидности: клетки с минимальными размерами ядра — диплоидные, следующий класс ядер — тетраплоидные, еще более крупные ядра — октоплоидные. Двухъядерные клетки всегда полиплоидны.

Еще в начале века Гертвигом было сформулировано (1903) правило постоянства отношения величины ядра и цитоплазмы — ядерно-плазменного отношения. Имеются представления, что ограничение роста клетки является результатом определенного ядерно-плазменного соотношения: по мере увеличения объема цитоплазмы ядро утрачивает способность регулировать происходящие в клетке процессы; возникающее при этом состояние и дает толчок к делению клетки. Иногда ограничение роста клетки связывают с изменением отношения поверхности клетки к ее объему — по мере роста клетки отношение поверхности клетки к объему становится все менее благоприятным для обменных процессов между клеткой и окружающей ее средой. В этом случае, следовательно, ограничение роста является адаптивным фактором. Взаимоотношения роста и деления уже рассматривались в главе XI при обсуждении вопроса о делении клетки.

ОБНОВЛЕНИЕ КЛЕТОК И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ИХ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА

Различные стадии развития клетки: недифференцированное состояние, стадия роста и дифференцировки, а также старение и смерть — не связаны с возрастом всего организма. Так, стареют и отмирают клетки зародыша, в то время как многие клетки старого организма находятся в недифференцированном состоянии и способны к размножению.

В процессе жизнедеятельности организма, в процессе его обмена веществ, происходит непрерывное обновление органических веществ. Это обновление, синтез веществ, протекает

с различной скоростью в отдельных клетках и связано с разрушением и синтезом молекул белков, нуклеиновых кислот, липидов и углеводов. В течение нормальной жизнедеятельности организма происходит и непрерывная смена клеток в большинстве тканей — одни клетки отмирают, другие размножаются, пополняя эту убыль.

Клетки организма существенно различаются по темпам роста и старения, по уровню дифференцировки и продолжительности жизни. Некоторые клетки имеют непродолжительный цикл развития — они быстро разрушаются и заменяются быстро размножающимися недифференцированными клетками. У клеток большинства органов наблюдается ослабление в ходе онтогенеза способности к размножению, а поперечнополосатые мышечные волокна и клетки нервной ткани завершают дифференцировку еще на стадии эмбрионального развития и, как правило, не делятся в постэмбриональном периоде.

Скорость обновления клеток и продолжительность их жизни удается точно определить при помощи введения в организм радиоактивных изотопов с последующей автордиографией. В качестве изотопа используют тимидин, меченный тритием (Л. Н. Жинкин, А. А. Заварзин, А. К. Дондуа, 1960; А. К. Дондуа, Г. К. Дондуа, 1964).

Подсчет в автографах исследуемой ткани клеток, содержащих радиоактивную метку, дает возможность судить об интенсивности синтеза ДНК в данной клетке, т. е. определить скорость клеточного обновления (Л. Н. Жинкин, 1962). Поскольку каждая дочерняя клетка получает половину радиоактивных атомов, присутствующих в родительской клетке, по скорости «разведения» метки можно судить о промежутке времени между двумя митозами, т. е. о продолжительности жизненного цикла клетки. При изучении обновления клеток животным вводят H^3 -тимидин и учитывают результаты или спустя несколько часов (тест на образование клеток), или спустя длительный срок (тест на сохранение клеток). В зависимости от интенсивности обновления клеточных популяций в различных тканях наблюдается разное количество меченых ядер. В тканях с высокой интенсивностью обновления в тесте на образование клеток имеется большой процент меченых ядер; в тесте на сохранение в этом случае меченые ядра отсутствуют. В тканях же, сохраняющих способность к размножению (печень, почки, поджелудочная железа), оба теста указывают на незначительное включение метки, а в высокодифференцированных тканях (поперечнополосатые мышцы, нейроны) при отрицательном результате первого теста высокий процент меченых ядер наблюдается, естественно, в тесте на сохранение клеток.

Для определения продолжительности жизненного цикла делящихся клеток, который совпадает с их митотическим циклом, удобно представить весь жизненный цикл в виде окружности (см. главу XI, рис. 90). Наименьший по времени отрезок цикла занимает, как мы видели, собственно митоз — M , продолжительность его (примерно $1/25$ жизненного цикла) обозначается t .

Вся остальная часть цикла — интерфаза — включает в свою очередь несколько периодов: G_1 — пресинтетический, или постмитотический период; S — период синтеза ДНК, РНК, белков, богатых энергией соединений; G_2 — постсинтетический, или премитотический, период.

Используя H^3 -тимидин, избирательно включающийся в ДНК хромосом удается определить продолжительность каждого из периодов жизненного цикла клетки. Закончив синтез ДНК, клетки через некоторый период (G_2) вступают в митоз (M). Чем больше клеток одновременно закончит период S , тем больше их одновременно вступит потом в митоз. Таким образом, по проценту меченых клеток, вступивших в митоз за определенный отрезок времени, можно судить о прохождении клетками периода S . Продолжительность постсинтетического периода G_2 равняется промежутку времени с момента введения метки до появления первых меченых митозов — первые меченые митозы окажутся в тех клетках, которые в момент введения метки находились в конце периода S . Включив метку, эти клетки раньше других заканчивают прохождение периода S и пройдя G_2 , первыми вступают в митоз. Определяя время между двумя максимумами меченых митозов, вычисляют продолжительность всего цикла — T , которая оказывается больше суммы времени протекания периодов S и G_2 . По разности $T - (S + G_2)$ определяют продолжительность пресинтетического периода G_1 вместе со временем митоза (t). Время митоза вычисляют по отношению $\frac{t}{T} = \frac{n}{N}$, где n — количество митозов, N — общее

количество делящихся клеток. При определении времени митоза было показано, что скорость митоза равна количеству меченых митозов, деленному на прирост числа клеток за определенное время. Продолжительность цикла определяют и по отношению $\frac{t_s}{I}$, где t_s — продолжительность перио-

да S , а I — индекс метки, т. е. отношение числа меченых клеток к общему числу клеток. Для более точного определения T необходимо знать пролиферативный пул ткани (P_c) — отношение общего числа пролиферирующих клеток ко всей клеточной популяции. Тогда $T = \frac{t_s}{P_c}$.

Применение метода радиоавтографии позволило разным авторам определить продолжительность жизненного цикла и отдельных его периодов у различных нормальных и опухолевых тканей (табл. 22)¹.

Таблица 22

Продолжительность жизненного цикла клеток и отдельных его периодов

Объект	T (продолжительность жизненного цикла)	Длительность отдельных периодов жизненного цикла (в часах)				
		M*	G ₁	S	G ₂	
Мышечные волокна языка эмбриона крысы	18 часов	2,5—3	10	6—7	3	
Эпителий кишечника мыши	19±5 »	0,5	9,5±3 ³ / ₄	7,5±1,5	1,5	
Эпидермис уха мыши	24 суток	3,8	22 суток	30	4—6	
Соединительнотканые эмбриональные клетки китайского хомячка (in vivo)	14 часов	0,5	5	6	2,5	
Клетки HeLa	25 »	14	8—8,5	3	0,5—1	
Костный мозг	эритроидный ряд миелоидный ряд	20 »	—	—	12	—
		30 »	—	—	18	—
Перевивной рак молочной железы мыши	24—84 »	—	—	10	1—4	

* Время протекания митоза часто обозначают t (см. выше).

СТАРЕНИЕ И СМЕРТЬ КЛЕТКИ

Данные о возрастных изменениях организма на микроскопическом уровне большей частью относятся к тканевым, а не к клеточным изменениям. Между тем многие исследователи полагают, что старение организмов представляет собой результат изменений составляющих их клеток, а не следствие нарушения их функционально-морфологической взаимосвязи, т. е. считают более правильным рассматривать старение именно на клеточном уровне (Б. Стрелер, 1964). Однако, несмотря на совершенно исключительную значимость, проблема возрастных изменений клеток почти не

¹ Данные, приведенные в табл. 22, взяты: М. Г. Чумак (1962), С. Басерга и У. Кисельский (1964); Р. Г. Цанев и Г. Г. Марков (1964).

разрабатывается. Еще в 1934 г. Б. П. Токин поставил проблему «онтогении клетки», а тем самым и вопрос о цикле развития самой клетки. На разных этапах онтогении клетки неравноценны физиологически, морфологически, в отношении своих морфообразовательных возможностей и т. п. В этом направлении исследования проводились преимущественно на одноклеточных или же на бластомерах дробящихся яиц, в то время как онтогенез клетки в системе интегрированной ткани почти не изучался (В. И. Карелина, 1948). Известно, что в клетках, заканчивающих свой жизненный цикл, уже не способных к дальнейшему делению, т. е. в стареющих клетках, происходят различные морфологические и физико-химические изменения. Для стареющих клеток характерно уменьшение степени дисперсности коллоидов протоплазмы, увеличение вязкости, инфильтрация клеток липидами и др.

При сопоставлении гистологических препаратов молодых и стареющих тканей отмечается уменьшение по мере старения упорядоченности в расположении клеток, что особенно наглядно проявляется в строении миокарда, клеток надпочечника и щитовидной железы. С возрастом наблюдается и большая вариабельность размеров клеток. Для стареющих нервных клеток характерно стирание клеточных границ, уменьшение в них содержания вещества Ниссля. Имеются данные о снижении общего числа клеток с возрастом.

Особенно четко это проявляется в клетках нервной системы; так, например, к старости исчезает примерно 25% клеток Пуркинье в коре мозжечка человека. В стареющих тканях увеличивается количество двухъядерных клеток. Andrew (1955), исследуя клетки Пуркинье в мозжечке мышей разного возраста, обнаружил отсутствие двухъядерных клеток у 4—6-недельных мышей и постепенное увеличение двухъядерности: у 6—10-месячных мышей 1—5 клеток, а у 25-месячных — 40 двухъядерных клеток на каждую 1000 просмотренных. Наблюдая подобную картину и в клетках печени человека (в возрасте от 50 лет до 91 года), автор делает вывод об увеличении числа амитозов в стареющих клетках.

В. Я. Бродский (1964) отмечает развитие полиплоидности в ходе онтогенеза высших животных; образование полиплоидных клеток становится основным фактором физиологической регенерации. При этом общее количество клеток в структурно-функциональной единице органа уменьшается, тогда как ее активность долгое время не изменяется. В. Я. Бродский считает, что полиплоидия и двухъядерность не являются сами по себе проявлениями старческих изменений: полиплоидия и ее вариант — двухъядерность развиваются вследствие неравномерности роста некоторых тканей

и недостаточности прямого восстановления клеточной популяции.

Весьма удобным объектом для изучения процессов старения и смерти клеток является культура ткани, в которой эти процессы можно проследить в каждом отдельном пассаже. В стареющих клетках культуры наблюдаются вакуолизация цитоплазмы, накопление в ней жировых капель, сморщивание ядер. Для стареющих клеток некоторых органов характерно и накопление пигмента «износа» (нервная ткань, миокард), представляющего собой, видимо, продукт окисления ненасыщенных липидов.

Имеются различные данные и о возрастных изменениях ядра. Так, например, отмечается более частая анеуплоидия соматических клеток в тканях животных старших возрастных групп. В клетках печени мышей были обнаружены (Curtis, 1963) возрастные аномалии хромосом, достигающие 22% у 12-месячных животных. Представляет интерес сопоставление изменений числа аномальных хромосом в клетках печени долгоживущих мышей (линия C57 BL/6J) и короткоживущих (линия A/HEJ): у первых увеличение с возрастом аномальных хромосом — значительно более медленный процесс, чем у вторых.

Касаясь возрастных изменений клетки, следует остановиться и на изменениях отдельных ее органоидов, которые, в процессе функционирования изнашиваются, стареют, а также подвергаются разрушению и замене новыми органоидами. Однако данные о морфологических изменениях органоидов и об изменении их активности весьма малочисленны и далеко не однородны (Б. Стрелер, 1964). Использование меченых атомов позволило получить достоверные сведения о скорости обновления отдельных субклеточных структур. Таким путем удалось, например, установить интенсивность обновления митохондрий в клетках печени крыс — период их полусуществования составил 10,3 дня (Fletcher, Sanadi, 1961).

Процесс разрушения стареющих органоидов удалось проследить на ряде животных и растительных объектов, а также у простейших (Brandes, Bertini, 1964; Elliott, Bakll, 1964). Оказалось, что стареющие органоиды: митохондрии, комплекс Гольджи, элементы эндоплазматической сети, рибосомы — разрушаются и подвергаются перевариванию внутри цитоплазматических вакуолей, ограниченных одно- или двухконтурной мембраной и характеризующихся высоким содержанием кислой фосфатазы. Последнее обстоятельство и явилось основанием рассматривать эти вакуоли как лизосомы, или цитолизосомы (см. главу VI). Однако более обоснованным представляется рассматривать это явление как свое-

образный физиологический процесс разрушения отмирающих органондов клетки, сопоставимый с процессом внутриклеточного пищеварения простейших и макрофагов, а сами вакуоли сравнивать с пищеварительными вакуолями.

Поскольку старение присуще всем формам живой материи, то оно и должно быть связано с теми соединениями, которые объединяют все живое, т. е. прежде всего с белками и нуклеиновыми кислотами. При старении изменяются все системы организма — молекулярные, межмолекулярные, субклеточные, клеточные, тканевые, функциональные. Имеется много данных о возрастных изменениях тотальных (суммарных) белков и некоторых индивидуальных белков, которые сопровождаются изменениями их биологических, физических и химических свойств. Отмечаются и возрастные изменения нуклеиновых кислот, например отчетливое снижение содержания РНК и ДНК по отношению к содержанию белка.

Один из представителей харьковской школы геронтологов А. В. Нагорный считал (1940), что онтогенетические изменения определяются в первую очередь состоянием протоплазматических структур, степенью их упорядоченности. Прогрессивное упорядочение структур, приводящее к их уплотнению, стабилизации, ведет к понижению способности структурированных элементов протоплазмы к самообновлению и самовоспроизведению. Эти представления в дальнейшем развивал И. Н. Буланкин (1959, 1960), объясняя возрастные качественные изменения белков на уровне комплексов, т. е. в результате изменения межмолекулярных связей — молекул белков друг с другом и с небелковыми веществами. Поскольку структуры клеток представляют собой упорядоченные системы, состоящие из многих белков и небелковых компонентов, то такая строгая упорядоченность создает благоприятные условия для образования вторичных межмолекулярных связей, влияющих на процессы самообновления сложных белковых комплексов (И. Н. Буланкин и Е. В. Парина, 1962).

Наличие качественных изменений белков обнаруживается при изучении их физико-химических свойств. Ружицка (1922) выдвинул концепцию возрастной стабилизации коллоидов протоплазмы. Разными исследователями был накоплен большой материал о возрастных различиях белков. Изменения белков могут быть обусловлены как изменениями самих индивидуальных белков, так и количественными изменениями отношений между белками или характером их взаимоотношений друг с другом и с небелковыми веществами. Однако в индивидуальных белках не было обнаружено существенных возрастных изменений. Имеющиеся немногочисленные литературные данные по изучению аминокислот-

ного состава разных белков не содержат указаний на их отличия в ходе онтогенеза.

В. Н. Никитин (1962) считает, что старение на цитобioхимическом уровне — это единый симптомокомплекс процессов снижения полноценности самообновления протоплазмы, уменьшения ферментативной активности протеолитических систем, ведущее к ухудшению лизиса «застарелых» белковых комплексов, постепенное, все более жесткое структурирование протоплазмы с накоплением в ней метаболически более инертных «долгоживущих» компонентов, гистерезис этих белков и связанных с ними макромолекул других веществ.

Известно, что с возрастом уменьшается реакционная способность белков. Некоторые авторы полагают, что в основе старения лежит иммобилизация белков, т. е. выключение их из сферы обмена в результате образования перекрестных связей между молекулами. Высказывалось мнение о физико-химической инактивации генетического материала. Старение организма объясняют и накоплением изменений в генетическом фонде организма, контролирующем биохимические процессы.

Кроме приведенных концепций о процессе старения биологических систем, подробно излагаемых в монографии Ж. А. Медведева (1963), имеются и другие представления о возрастных изменениях состава и структуры комплексов. Так, Ж. А. Медведев (1960) находит, что синтез белков в сформировавшемся организме не отличается точностью воспроизведения. Сам механизм синтеза допускает возможность случайных микроизменений, «ошибок» воспроизведения. Постепенно накапливаясь, эти «ошибки» обуславливают структурные изменения протоплазмы. Ж. А. Медведев считает, что отсутствие четких возрастных изменений белков и нуклеиновых кислот объясняется хаотичностью мелких изменений, касающихся разнообразных молекул.

«Ошибки» синтеза трудно обнаружить, поскольку они происходят в разных направлениях; эти изменения могут суммироваться и поэтому не учитываться при анализе. «Ошибки» синтеза белков, РНК, ДНК происходят под влиянием разных внутренних и внешних факторов: патологические процессы, эндогенная и экзогенная радиация, которая вызывает образование свободных радикалов, разрушает полимеры, нарушает ферментативные реакции и т. д. Так как функции основных специфических биологических полимеров — ДНК, РНК и белков — точно согласованы с их составом, то изменение этого состава лежит в основе всех форм биологической изменчивости, в том числе в основе возрастной эволюции индивидуума. Старение — результат аккумуляции во времени спонтанных и индуцированных разными фактора-

ми всевозможных молекулярных субклеточных изменений (Ж. А. Медведев, 1963а).

Все возрастные изменения клетки предшествуют ее смерти. Смерть клетки может наступить и при различных воздействиях на клетку. В зависимости от характера воздействия происходящие в клетке изменения могут быть обратимыми или же завершаться смертью клетки. Пограничное состояние клетки между жизнью и смертью, характеризующее определенным комплексом изменений протоплазмы, было названо Д. Н. Насоновым и В. Я. Александровым паранекрозом (см. главу XIV).

Изучая изменения клетки, приводящие к смерти, следует различать физиологические и патологические процессы. Принято считать, что задача цитологии — изучение естественных процессов старения и смерти клетки, в то время как патологическая анатомия изучает процессы, возникающие в клетке в результате различных воздействий. Однако цели и методы изучения данных дисциплин чрезвычайно близки друг к другу. Одной из основных задач цитологии, безусловно, должна быть проблема лечения поврежденных клеток. Все экспериментальные работы по терапии клеток имеют большое значение для решения ряда практически важных задач.

Изменения в клетке, предшествующие смерти, называются некробиотическими. Они выражаются в изменении вязкости протоплазмы, понижении ее (разжижение) или повышении (желатинизация или коагуляция). Часто наблюдаются различные виды нарушения обмена веществ — жировое, восковое, гидролическое и другие перерождения клеток.

В случае мгновенной смерти (действие температуры, механическое повреждение, фиксация и др.) происходит быстрая коагуляция протоплазмы, нарушающая структуру клетки, и при этом одновременно прекращается активность внутриклеточных ферментов. Обычно в организме смерть клетки, прекращение процессов ее жизнедеятельности, происходит не мгновенно, а постепенно. В этом случае в клетке протекают как предсмертные изменения, некробиотические, так и посмертные. Мы уже говорили, что некробиотические изменения связаны с разными видами перерождения клеток, посмертные же изменения обусловлены деятельностью внутриклеточных ферментов, преимущественно гидролитических, вызывающих расщепление крупных молекул (особенно белковых). Возникающее при этом в условиях недостатка кислорода анаэробное брожение ведет к образованию различных кислот, понижению рН (ацидоз). Вследствие накопления некрупных молекул и ионов, возникших в результате аутоли-

за, повышается осмотическое давление в клетке, приводящее к ее набуханию. Разделения фаз и выпадение белков основной цитоплазмы в клетке ведут к накоплению в цитоплазме белковых гранул — так называемое мутное набухание; вследствие распада липопротеидных комплексов в клетке образуются жировые капельки. Эти изменения в цитоплазме сопровождаются и ядерными изменениями. Ядро сморщивается (пикноз), в нем происходит деполимеризация ДНК. Вследствие отщепления нуклеиновой кислоты от нуклеопротеинов ядро сначала окрашивается более интенсивно, чем в нормально функционирующей клетке. Цитофотометрические исследования показали, что такое усиление базофилии связано не с увеличением количества поглощающего материала, а с уменьшением объема ядра. Однако позже, в результате протеолиза и действия нуклеаз, количество ДНК уменьшается, ядро постепенно теряет способность к окрашиванию, растворяется (кариолизис), иногда разделяясь на части (кариорексис).

Надежным морфологическим критерием смерти клетки является диффузное окрашивание неживых клеток витальными красителями (в то время как для живых клеток характерно накопление красителя в гранулах), в них более резко выражена ядерная оболочка. Для неживых клеток культуры ткани характерно, кроме того, втягивание псевдоподий и округление клеток. Несомненный интерес представляет изучение последовательности процессов, ведущих к гибели клеток, как в морфологическом, так и в биохимическом аспекте.

ЛИТЕРАТУРА

- Басерга С. и Кисельский У. Автобиография клеток. В кн.: Структура и функция. М., 1964, 134—144.
- Буланкин И. Н., Парина Е. В. Онтогенетическая эволюция белков. В кн.: Проблемы возрастной физиологии и биохимии. Харьков, 1962, 285—315.
- Вермель Е. М. Величина, размножение и рост клеток. В кн.: Рост животных. М.—Л., 1935, 107—163.
- Вермель Е. М. Исследования о клеточных размерах. Ученые записки Московского медицинского института, 1940, 25, 127.
- Дондуа А. К., Дондуа Г. К. К анализу митотических циклов. В кн.: Исследование клеточных циклов и метаболизм нуклеиновых кислот при дифференциации клеток. Изд. «Наука», 1964, 5—36.
- Жинкин Л. Н. Обновление клеток в организме. Л., 1962.
- Жинкин Л. Н., Заварзин А. А. и Дондуа А. К. Цитология, 1960, 2, 6, 625—639.
- Карелина В. И. ДАН СССР, 1948, 61, 2, 407—410.
- Медведев Ж. А. Успехи совр. биол., 1961, 51, 3, 299—316.
- Медведев Ж. А. Биосинтез белков и проблемы онтогенеза. М., 1963.
- Медведев Ж. А. Проблема генетического контроля продолжительности жизни. В кн.: Механизмы старения. Госмедгиз УССР, Киев, 1963а, 47—57.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Глава I.	
Введение	7
Литература	25
Глава II.	
Общая морфология клетки. Химическая и физико-химическая характеристика протоплазмы	28
Общая морфология клетки	28
Органоиды	29
Включения	30
Размеры и форма клеток	31
Химическая характеристика протоплазмы	33
Неорганические вещества	35
Белки	35
Липиды	42
Углеводы	42
Физико-химические свойства протоплазмы	43
Литература	50
Глава III.	
Митохондрии	52
Морфология	53
Размеры и количество	61

	Локализация	63
	Методы выявления и прижизненные наб-людения	64
	Химический состав	66
	Функции	73
	Развитие и восстановление	74
	Патология	75
Литература		78
Глава IV.		
Комплекс Гольджи		82
	Морфология	82
	Локализация и методы выявления	93
	Реальная структура или артефакт	95
	Химический состав	97
	Функции	98
	Развитие и восстановление	107
	Патология	109
Литература		111
Глава V.		
Эндоплазматическая сеть. Рибосомы		114
Эндоплазматическая сеть		114
	Морфология	115
	Химический состав	122
	Функции	123
	Развитие и восстановление	128
	Патология	130
Рибосомы		131
Литература		138
Глава VI.		
Цитоплазматические частицы		141
Микросомы		141
Лизосомы		145
Литература		152
Глава VII.		
Клеточный центр		154
	Морфология	154
	Локализация	158
	Методы выявления	158
	Химический состав	159
	Функции	160
	Репродукция	162
Литература		165
Глава VIII.		
Плазматическая оболочка. Проницаемость клетки		166
Строение плазматической оболочки и ее химический состав		167
Проникновение веществ в клетки		175
	Влияние различных факторов на проникновение веществ в клетки	178
		413

Мембранная теория клеточной проницаемости	179
Сорбционная теория клеточной проницаемости	183
Специализированные структуры поверхности клетки	188
Специализированные структуры свободной поверхности	188
Специализированные структуры контактирующих поверхностей	190
Специализированные структуры оболочки основания	193
Литература	196
Глава IX.	
Интерфазное ядро	198
Общая морфология интерфазных ядер	199
Химический состав	204
Основные структурные компоненты ядра	215
Ядерная оболочка	215
Проницаемость ядерной оболочки	219
Ядрышко	226
Строение, химический состав и происхождение	226
Функция	231
Кариоплазма	234
Половой хроматин	245
Функциональное значение ядра	245
Литература	250
Глава X.	
Хромосомы	254
Морфология	255
Размеры и количество	263
Методы выявления	265
Химический состав	266
Функции	269
Репродукция и восстановление	278
Патология	282
Литература	285
Глава XI.	
Репродукция клеток	288
Митотическое деление, или митоз	288
Препрофаза	293
Периоды митоза	295
Профаза — период реорганизации	295
Митотический аппарат	298
Метафаза и анафаза — период движений	299
Телофаза — период реконструкции. Цитотомия	301
Мейоз	303
Время протекания митоза и интерфазы	303
Причины и регуляторы митоза	304
Эндомитоз, политения, полиплоидия. Амитоз	311
Литература	314

Глава XII.	317
Фагоцитоз и пиноцитоз	317
Фагоцитоз	319
Стадии фагоцитоза	320
Механизм фагоцитоза	320
Амебоидные движения	321
Стадия аттракции	321
Поглощение фагоцитом объекта фагоцитоза	328
Стадия переваривания	332
Пиноцитоз	337
Механизм пиноцитоза	341
Литература	
 Глава XIII.	 343
Движение клетки	343
Амебоидное движение	351
Ресничное движение	352
Строение ресничек и жгутиков	357
Особенности ресничного движения	362
Мышечное движение	367
Литература	
 Глава XIV.	 369
Реакция клетки на внешние воздействия	377
Литература	
 Глава XV.	 379
Дифференциация клеток	383
Стабильность и обратимость дифференциации	386
Факторы дифференциации	395
Литература	
 Глава XVI.	 397
Жизненный цикл клетки	399
Рост клеток	400
Обновление клеток и продолжительность их жизненного цикла	403
Старение и смерть клетки	409
Литература	411
Основные сокращения химических терминов	

Алов Носиф Александрович,
Брауде Александр Исаакович,
Аспиз Мирра Евсеевна

**ОСНОВЫ
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ
МОРФОЛОГИИ
КЛЕТКИ**

Редактор *Л. Д. Лиознер*
Техн. редактор *А. М. Миронова*
Корректор *Л. Я. Ракитина*
Художественный редактор *Л. С. Бирюкова*
Переплет художника *Б. И. Фомина*

Сдано в набор 26/XI 1965 г. Подписано к печати 13/I 1966 г.
Формат бумаги $60 \times 90^{1/16} = 26,0$ печ. л. (условных 26,0 л.)
25,30 уч.-изд. л. (бум. тип. № 1) Тираж 5000 экз. МН-71

Издательство «Медицина».
Москва, Петроверигский пер., 6/8
Заказ 566. 11-я типография Главполиграфпрома Комитета
по печати при Совете Министров СССР, Москва,
Нагатинская улица, д. 1.
Цена 1 р. 83 к.

М Е Д И Ц И Н А . 1 9 6 6