Глава 3 патофизиология клетки

|  |
| --- |
|  |

Нарушение жизнедеятельности организма человека всегда так или иначе связано с изменением функционирования клеток. Клетки организма выполняют определенные функции. В совокупности они способны удовлетворять физиологические потребности организма в поддержании нормального гомеостаза. При воздействии избыточных физиологических или патологических стимулов в клетках может развиться процесс адаптации, следствием которого является достижение нового стационарного состояния, позволяющего им нормально функционировать в изменившихся условиях. Если резерв адаптационного ответа исчерпан, а адаптация не достигнута, наступает повреждение клетки. До определенного предела повреждение клетки обратимо, но даже если это нарушение имеет временный и обратимый характер, оно ухудшает состояние организма в целом. Если неблагоприятный фактор действует длительно или интенсивность его действия очень велика, наступает необратимое повреждение клетки и ее гибель.

При этом **нарушение функций одних клеток может быть первопричиной развития болезни в целом, тогда как состояние других клеток может быть нарушенным вследствие неблагоприятных изменений в организме, связанных с развитием патологического процесса.**Например, при инфаркте миокарда происходит нарушение функционирования, а затем гибель клеток сердечной мышцы вследствие острого недостатка кислорода. В результате того, что часть сердечной мышцы не участвует в сокращении, нарушается кровоснабжение организма, которое может привести к серьезной гипоксии и нарушению функций клеток других органов: почек, мозга, печени. При многих интоксикациях первично повреждаются клетки печени или почек, а нарушение функционирования этих органов сопровождается отравлением других клеток организма токсиче-

|  |
| --- |
|  |

скими продуктами метаболизма. Первично или вторично повреждение клеток - оно в любом случае неблагоприятно отражается на состоянии организма и должно быть ликвидировано на раннем этапе своего развития. Но для того чтобы найти средство предупреждения или защиты клеток от болезнетворного воздействия, надо знать, почему и как повреждаются и гибнут клетки в живом организме.

3.1. Виды повреждений и гибели клеток. Универсальный ответ клетки на повреждение

**Повреждение клетки - типический патологический процесс, основу которого составляют нарушения внутриклеточного гомеостаза, приводящие к нарушению структурной целостности клетки и ее функциональных способностей после удаления повреждающего агента.**Так, например, на первом этапе нарушение функционирования клетки, вызванное действием неблагоприятных факторов, например недостатком кислорода или действием токсических соединений, может и не привести к повреждению клетки: как только восстановятся нормальные окружающие условия, клетка вновь вернется в состояние, близкое к исходному. Например, если в каком-нибудь участке миокарда кровоснабжение прекращается на короткий промежуток времени (не более 10-15 мин), а затем восстанавливается, то кардиомиоциты сохраняют способность к регенерации и нормальному функционированию. Если кровоснабжение не восстанавливается, то повреждение миокарда становится необратимым и кардиомиоциты на этом участке погибают.

Различают **непосредственное (первичное)**и **опосредованное (вторичное) повреждения.**Последнее возникает как следствие первичных нарушений постоянства внутренней среды организма.

В зависимости от скорости развития и выраженности основных проявлений повреждение клетки может быть **острым**и **хроническим.**

**Острое повреждение**развивается быстро, как правило, в результате однократного, но интенсивного повреждающего воздействия, в то время как **хроническое повреждение**протекает медленно и является следствием многократных, но менее интенсивных патогенных влияний.

|  |
| --- |
|  |

В зависимости от периода жизненного цикла, на который приходится действие повреждающего агента, повреждение клетки может быть **митотическим**и **интерфазным.**

В зависимости от степени нарушения внутриклеточного гомеостаза повреждение бывает **обратимым**и **необратимым**(см. выше).

Выделяют **два патогенетических варианта повреждения клеток:**

**1.** **Насильственный.**Развивается в случае действия на исходно здоровую клетку физических, химических и биологических факторов, интенсивность которых превышает обычные возмущающие воздействия, к которым клетка адаптирована. Наиболее чувствительны к данному варианту повреждения функционально малоактивные клетки, обладающие малой мощностью собственных гомеостатических механизмов.

**2.** **Цитопатический.**Возникает в результате первичного нарушения защитно-компенсаторных гомеостатических механизмов клетки. В этом случае фактором, запускающим патогенетические механизмы повреждения, являются естественные для данной клетки возмущающие стимулы, которые в этих условиях становятся повреждающими. К цитопатическому варианту относятся все виды повреждения клетки, возникающего вследствие отсутствия какихлибо необходимых ей компонентов (гипоксическое, нервнотрофическое, при голодании, гиповитаминозах, недостаточности антиоксидантной системы, генетических дефектах и др.). К цитопатическому повреждению наиболее чувствительны те клетки, реактивность, а следовательно, и функциональная активность которых в естественных условиях очень высоки (нейроны, кардиомиоциты).

• **Причинами повреждения клеток**могут быть следующие факторы: гипоксия. Чрезвычайно важная и распространенная причина повреждения клеток. Уменьшение кровообращения (ишемия), возникающее при атеросклерозе, тромбозе, сдавлении артерий, является основной причиной гипоксии. Другой причиной может быть недостаточная оксигенация крови при сердечно-сосудистой или легочной патологии. Третьей причиной может являться нарушение транспорта кислорода, например при анемии, отравлении окисью углерода или действии метгемоглобинобразователей (нитраты и нитриты, хлорноватые и хлорноватистые соли, феррицианиды, лекарственные вещества - фенацетин, амидопирин, сульфаниламиды и др.) (подробнее см. раздел 16.2);

|  |
| --- |
|  |

•  физические агенты - механическая травма, температурные воздействия, колебания барометрического давления, ионизирующая и ультрафиолетовая радиация, электрический ток;

•  химические агенты и лекарства. Повреждение клеток может быть вызвано как жизненно необходимыми химическими соединениями, такими, как, например, глюкоза или поваренная соль в гипертонических концентрациях, кислород в высоких концентрациях. Вещества, известные как яды (в частности, мышьяк, цианиды, соли ртути), могут вызывать гибель клеток в считанные минуты или часы. Гибель клеток может наступать при действии факторов внешней среды, «социальных» факторов - алкоголя, курения, наркотиков и др.;

•  иммунологические реакции. Хотя иммунные реакции защищают организм от воздействия биологических агентов, в ряде случаев (аллергия, аутоиммунные реакции) они могут обусловливать повреждение клеток;

•  генетические повреждения (например, наследственные мембранопатии, энзимопатии и др.);

•  дисбаланс питания.

Первое событие, которое в конце концов приводит к повреждению клетки, - это взаимодействие повреждающего агента с мишенями-молекулами (табл. 3-1). Так, мишенями для ультрафиолетовых лучей могут быть ароматические группы белков, ферментов и рецепторов или нуклеотиды в молекулах ДНК и РНК. Мишенью для окиси углерода служат различные гемсодержащие ферменты. Мишенью при действии гипоксии оказываются митохондрии, которые перестают запасать энергию в форме АТФ, и т.д.

**Таблица 3-1.**Примеры повреждающих агентов, действующих на клетку

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Действующие агенты** | **Основные мишени** | **Первичные процессы** |
| Токсины | Активные центры ферментов и рецепторов, ионные каналы | Инактивация ферментов, блокада рецепторов и ионных каналов |
| Ультрафиолетовое излучение | Нуклеиновые кислоты и белки | Фотохимические реакции нуклеотидов и определенных аминокислот |

*Окончание табл. 3-1*

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| СВЧ миллиметрового диапазона | Молекулы воды | Ускорение процессов, лимитируемых диффузией в водной среде |
| Гипоксия Митохондрии Снижение синтеза АТФ |
| Гиперкалиемия | Клеточные мембраны | Увеличение мембранногопотенциала\*,гиперполяризация |

\* Увеличение разницы потенциалов между наружной и внутренней поверхностью клеточной мембраны.

Взаимодействие повреждающего фактора c мишенью может приводить к повреждению самой мишени, что наблюдается, например, при действии ультрафиолетовых лучей на клетки. В других случаях мишень не повреждается действующим агентом, но временно перестает функционировать. Именно это приводит в конечном счете к повреждению клетки в целом. Например, при действии цианистого калия выключается функция цитохромоксидазы, которая в данном случае служит мишенью для яда. Но фермент не повреждается: если удалить цианид из окружающей среды, функция цитохромоксидазы восстановится. Причиной гибели клетки является последующее повреждение клеточных структур, вызванное длительным прекращением энергообеспечения.

Таким образом, между моментом взаимодействия повреждающего агента с мишенью и процессом повреждения определенных клеточных структур может произойти целая цепь последовательных событий.

**Гибель клетки**- это конечный результат ее повреждения. Существует два основных типа клеточной гибели - **некроз**и **апоптоз.**На сегодняшний день выделяют также третий тип смерти клеток - **конечное дифференцирование,**который, по мнению большинства современных ученых, является одной из форм апоптоза.

**Некроз**(от греч. *nekros*- мертвый) **- это патологическая форма гибели клетки вследствие ее необратимого химического или физического повреждения**(высокая и низкая температура, органические растворители, гипоксия, отравление, гипотонический шок, ионизирующее излучение и др.). Некроз представляет собой спектр морфологических изменений, являющихся результатом разрушающего действия ферментов на поврежденную клетку. Развивается два конкурирующих процесса: ферментативное переваривание клетки

**(колликвационный, разжижающий некроз)**и денатурация белков **(коагуляционный некроз).**Для проявления обоих этих процессов требуется несколько часов, поэтому в случае внезапной смерти, например, при инфаркте миокарда соответствующие морфологические изменения просто не успевают развиться. Этот вид гибели клеток генетически не контролируется.

Некрозу могут предшествовать периоды **паранекроза**и **некробиоза.**

**Паранекроз**- заметные, но обратимые изменения в клетке: помутнение цитоплазмы, вакуолизация, появление грубодисперсных осадков, увеличение проникновения в клетку различных красителей.

**Некробиоз -**состояние «между жизнью и смертью» (от *necros*- мертвый и *bios*- живой); изменения в клетке, предшествующие ее смерти. При некробиозе в отличие от некроза возможно возвращение клетки в исходное состояние после устранения причины, вызвавшей некробиоз.

Если некроз считается патологической формой клеточной гибели, возникающей в результате чрезмерного (резкого, сильного) повреждающего воздействия на клетку, то апоптоз противопоставляется ему как контролируемый процесс самоуничтожения клетки.

**Апоптоз**(от греч. *аро*- отделение и *ptosis*- падение) **- это генетически контролируемая физиологическая форма гибели клетки.**Биологическое значение апоптоза заключается в поддержании внутреннего гомеостаза организма на клеточном, тканевом и системном уровнях. Апоптоз ответствен за многочисленные физиологические и патологические процессы в организме:

1. Программированное разрушение клеток на стадии эмбриогенеза **(автономный апоптоз).**Различают три категории автономного апоптоза: морфогенетический, гистогенетический и филогенетический.

*Морфогенетический апоптоз*участвует в разрушении различных тканевых зачатков, что обеспечивается:

|  |
| --- |
|  |

•  гибелью клеток в межпальцевых промежутках;

•  гибелью клеток «избыточного» эпителия при слиянии нёбных отростков, когда формируется твердое нёбо;

•  гибелью клеток в дорсальной части нервной трубки во время смыкания, что необходимо для достижения единства эпителия двух сторон нервной трубки и связанной с ними мезодермы.

Нарушение морфогенетического апоптоза в этих трех локализациях приводит, соответственно, к развитию синдактилии, расщеплению твердого нёба и *spinabifida.*

*Гистогенетический апоптоз*имеет место при дифференцировке тканей и органов, например, при гормонально-зависимой дифференцировке половых органов из тканевых зачатков. Так, клетками Сертоли в яичках плода мужского пола синтезируется гормон, который вызывает путем апоптоза регрессию протоков Мюллера, из которых у женщин формируются маточные трубы, матка и верхняя часть влагалища.

*Филогенетический апоптоз*участвует в удалении рудиментарных структур у эмбриона, напримерпронефроса.

2. Гормонозависимая инволюция органов у взрослых, например отторжение клеток эндометрия во время менструального цикла, атрезия фолликулов в яичниках в менопаузе, регрессия молочной железы после прекращения лактации.

3. Стабилизация численности клеток и их популяций в активно пролиферирующих тканях, например клеток эпителия кишечника, крови и иммунной системы; удаление стареющих клеток, прошедших свой жизненный цикл.

4. Элиминация части опухолевых клеток во время спонтанной регрессии опухолей.

5. Гибель клеток иммунной системы (В- и Т-лимфоцитов) при гипосекреции цитокинов, аутореактивных Т-клеток в тимусе - при их клональнойделеции.

6. Патологическая атрофия гормонозависимых органов, например атрофия предстательной железы после кастрации; истощение лимфоцитов в тимусе на фоне терапии глюкокортикоидами.

|  |
| --- |
|  |

7. Патологическая атрофия паренхиматозных органов после обтурации выводящих протоков, например, в поджелудочной и слюнных железах, почках.

8. Гибель клеток, вызванная действием цитотоксических Т-лимфоцитов, в частности при отторжении трансплантата и болезни «трансплантат против хозяина».

9. Элиминация клеток, инфицированных вирусами (например, при вирусном гепатите фрагменты апоптотических клеток обнаруживаются в печени в виде телец Каунсильмана).

10. Элиминация поврежденных клеток при действии химических и физических факторов (высокая и низкая температура,

ионизирующее излучение, противоопухолевые препараты и др.) в дозе, недостаточной для развития некроза.

Апоптоз является активным процессом саморазрушения клетки, по морфологическим и другим признакам он существенно отличается от некроза (см. табл. 3-2). Наиболее характерные проявления апоптоза определяются тем, что первые события, связанные с его осуществлением, начинаются в ядре. К ним относятся конденсация хроматина с формированием скоплений (в виде ленты, комочков), прилежащих к ядерной мембране (маргинация хроматина), и появление вдавлений ядерной мембраны, приводящих к фрагментации ядра (кариорексису) и образованию апоптотических телец - внеклеточных фрагментов ядра, окруженных мембраной. В цитоплазме происходит конденсация и сморщивание гранул. Клеточная мембрана утрачивает ворсинчатость, образует пузыревидные вздутия, на ней экспрессируются различные молекулы, распознаваемые фагоцитами (фосфатидилсерин, тромбоспондин, десиалированные мембранные гликоконъюгаты). От поверхности апоптотической клетки отщепляются небольшие везикулы, наполненные содержимым цитоплазмы (митохондрии, рибосомы и др.) и окруженные мембранным липидным бислоем. Клетка постепенно уменьшается в объеме, округляется и теряет межклеточные контакты. Апоптотические клетки и их фрагменты (апоптотические тельца, везикулы) поглощаются макрофагами, нейтрофилами и другими соседними клетками, не являющимися «профессиональными» фагоцитами. В результате эндоцитоза содержимое апоптотических клеток не выделяется в межклеточное пространство, как это происходит при некрозе, при котором вокруг гибнущих клеток скапливаются их активные внутриклеточные компоненты, включая энзимы, закисляется среда, что способствует повреждению соседних клеток и развитию воспалительной реакции, т.е. апоптоз одиночной клетки не отражается на ее окружении.

|  |
| --- |
|  |

В развитии апоптоза выделяют 3 стадии: сигнальную (индукторную), эффекторную и деградации (деструкции).

**Пусковыми факторами апоптоза**могут быть как внешние (внеклеточные) факторы, так и внутриклеточные сигналы. Сигнал воспринимается клеткой, далее последовательно передается молекулам-посредникам (мессенджерам) различного порядка и достигает ядра, где происходит включение программы клеточного «самоубийства».

**Таблица 3-2.**Дифференциальные признаки некроза и апоптоза

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| **Признаки Некроз Апоптоз** |
| Пусковой фактор | Разрушение мембраны под действием патологических стимулов | Деградация ДНК под действием физиологических и патологических стимулов |
| Распространенность Группа клеток Одиночная клетка |
| Биохимические изменения в клетке | Активация лизосомальных ферментов | Активация эндонуклеаз, фрагментирующих ДНК |
| Энергозависимость Нет Есть |
| Целостность цитоплазматической и внутриклеточных мембран | Нарушена | Сохранена |
| Морфологические изменения клетки | Увеличение размеров клетки, разрыхление мембраны, набухание (окноз) цитоплазмы, митохондрий, лизис ядра и гранул | Уменьшение размеров клетки, уплотнение и вздутие мембраны, кариопикноз, кариорексис, маргинация хроматина, конденсация и уплотнение гранул |
| Воспалительный ответ | Есть | Нет |
| Элиминация гибнущей клетки | Лизис клетки, фагоцитоз | Фрагментация клетки, поглощение фрагментов клетки (мембранных везикул, апоптотических телец) соседними клетками и фагоцитами |

Классическими индукторами **экзогенного апоптоза**являются стероидные гормоны (половые, тиреоидные, кальцитриол, минералокортикоиды, ретиноиды), антигены, антитела, митогены, цитокины (фактор некроза опухолей (TNF) α, интерлейкин (IL) 1, IL-10, интерферон (INF) γ, β-токоферол и др.). Их проапоптогенное действие осуществляется через ядерные рецепторы (например, GR - глюкокортикоидный рецептор), специализированные мембранные «рецепторы смерти» (Fas, TNF-RI, TNF-RII, DR-3, DR-5 и др.) и рецепторы, выполняющие иные функции, например функцию активации клетки (T-клеточный рецептор (TCR),

цитокиновые рецепторы), что сопровождается развитием активационного апоптоза.

Ситуация **эндогенного запуска программы гибели клетки**возможна при лишении ее ростовых факторов (IL-2, IL-3, IL-4, INF-α, колониестимулирующих факторов - гранулоцитарно-макрофагального (ГМ-КСФ), гранулоцитарного (Г-КСФ), эритропоэтина и др.), нарушении контактов с внеклеточным матриксом и другими клетками, накоплении нерепарируемых разрывов ДНК (например, при повреждении клетки вирусами, ионизирующей радиацией, ультрафиолетовым излучением, токсинами и др.). В последнем случае важная роль отводится ядерному белку р53 (см. ниже).

В результате запуска апоптогенным (экзогенным или эндогенным) сигналом программы активации генов-индукторов апоптоза (Р53, BAX, PIG, FAS/APO-1, IGF-BP3 и др.) и/или угнетения апоптозингибирующих генов (генов семейства BCL-2) в клетке изменяется набор внутриклеточных РНК и белков, синтезируются и активируются ферменты, способные разрушать клеточные белки (протеазы - каспазы, катепсины, кальпаины, гранзимы) и нуклеиновые кислоты (нуклеазы - Са2+/Мg2+-зависимая эндонуклеаза и др.). Основным проявлением деструктивных изменений клетки при апоптозе является деградация хроматина, основой которого служит расщепление ДНК.

В настоящее время выделены несколько основных **механизмов реализации апоптоза:**

1) ***Рецепторный.***Осуществляется с помощью «рецепторов смерти» (см. выше) при активирующем взаимодействии с соответствующими лигандами, большинство из которых относится к суперсемейству фактора некроза опухолей. Взаимодействие рецептора с лигандом приводит к активации адапторных белков, ассоциированных с «доменами смерти» (FADD - Fas-associateddeathdomain, TRADD - TNF-R-associateddeathdomain), и прокаспазы 8, продукт которой - каспаза 8 (инициаторная) активирует каспазу 3 (эффекторную), что, в свою очередь, обусловливает активацию эндонуклеаз, фрагментирующих ДНК.

|  |
| --- |
|  |

2) ***Митохондриальный.***Участие митохондрий в апоптозе обеспечивается присутствием в их матриксе и межмембранном пространстве большого количества биологически активных веществ (цитохрома С (Cyt С); прокаспаз 2, 3, 9; апоптозиндуцирующего фактора (AIF), обладающих выраженным апоптогенным действием. Фактором активации апоптоза является выход данных веществ

в цитоплазму при снижении трансмембранного потенциала митохондрий вследствие открытия гигантских митохондриальных пор (выполняют роль Ca2+-, рН-, потенциал-, НАДФ2Н/НАДФ+- и редоксзависимых каналов) и повышения проницаемости митохондриальных мембран. К раскрытию пор приводят истощение в клетках восстановленного глутатиона, НАДФН, АТФ и АДФ, образование активных форм кислорода, разобщение окислительного фосфорилирования, увеличение содержания Ca2+ в цитоплазме. Поступление межмембранных белков и активация апоптоза возможны также при разрыве наружной мембраны митохондрий вследствие гиперполяризации внутренней мембраны.

3) ***р53-опосредованный.***p53 - многофункциональный белок, играющий важную роль в мониторинге сигналов о состоянии клетки, целостности ее генома, активности систем ДНК-репарации. Повреждение ДНК ведет к накоплению белка р53 в клетке. Это определяет остановку клеточного цикла в фазах G1 и G2, предотвращает репликацию, активирует синтез и репарацию ДНК, а следовательно, создает условия для восстановления нативной структуры ДНК, препятствует появлению мутантных и анеуплоидных клеток в организме. В случае если имеется недостаточность систем ДНК-репарации и повреждения ДНК сохраняются, клетка подвергается апоптозу. В частности, белок р53 способен индуцировать транскрипцию таких апоптогенных факторов, как Bax, Fas- рецептор, DR-5 и др.

4) ***Перфорин-гранзимовый.***Цитотоксические Т-лимфоциты (Т-киллеры) вызывают апоптоз клеток-мишеней (например, инфицированных клеток) с помощью белка перфорина. Полимеризуясь, перфорин образует в цитоплазматической мембране клеткимишени трансмембранные каналы, по которым внутрь клетки поступают секретируемые Т-киллером гранзимы (фрагментины) - смесь сериновых протеаз. Основным компонентом этой смеси является гранзимВ - протеолитический фермент, активирующий каспазу 3.

|  |
| --- |
|  |

Важную роль в процессе **передачи апоптогенного сигнала**и **регуляции апоптоза**играют следующие внутриклеточные факторы (мессенджеры):

•  концентрация ионов Ca (Ca2+ активирует сериновые и цистеиновые протеазы, Ca2+/Mg2+-зависимую эндонуклеазу);

•  протеинкиназы А (медиатор апоптоза) и С (ингибитор апоптоза);

•  церамид (стимулирует киназы, фосфатазы);

•  активные формы кислорода (обусловливают снижение трансмембранного потенциала митохондрий, увеличение внутриклеточной концентрации Ca2+, образование цАМФ);

•  монооксид азота (опосредует изменение экспрессии р53, открытие гигантских пор в митохондриях и снижение митохондриального потенциала).

При различных патологических процессах в организме (инфекция, воспаление, иммунодефициты, гипо- и апластическая анемии, опухоли и др.) могут наблюдаться как ускорение, так и замедление апоптоза.

**Универсальный ответ клетки на повреждение.**Особенностью развития патологических изменений в клетках в ответ на самые различные неблагоприятные воздействия является сходство этих изменений, которое позволило Д.Н. Насонову и В.Я. Александрову выдвинуть в 1940 г. теорию о неспецифической реакции клеток на повреждение. Ее суть сводится к следующему - **каким бы ни был повреждающий агент и на какие бы клетки он ни действовал, ответ клеток по ряду показателей является одинаковым.**К числу таких показателей относятся:

1) уменьшение дисперсности коллоидов цитоплазмы и ядра;

2) увеличение вязкости цитоплазмы, которому иногда предшествует ее некоторое уменьшение;

3) увеличение сродства цитоплазмы и ядра к ряду красителей. Во многих случаях обнаруживаются также набухание клетки,

|  |
| --- |
|  |

изменение ионной проницаемости плазматической и внутриклеточных мембран, выход метаболитов из клетки, изменение флуоресценции, повышение кислотности цитоплазмы и т.д. Существование такого стереотипа изменений физико-химических свойств клеток при их повреждении связано с тем, что молекулярноклеточные механизмы повреждения сходны, хотя причины, вызвавшие повреждение, могут быть самыми разными. Практически у всех клеток при действии повреждающих агентов наблюдается резкое увеличение проницаемости клеточных мембран для ионов кальция. Это сопровождается активацией различных внутриклеточных ферментов и процессов: протеинкиназ, фосфолипаз, фосфодиэстеразы циклических нуклеотидов, системы биосинтеза белков и т.д. Эти изменения могут быть обратимыми, но в конце концов при сильном и длительном воздействии повреждающего фактора происходит стойкое нарушение функций клеток, а следовательно, ткани и органа в целом.

3.2. Механизмы повреждения мембранных структур клетки

Наиболее ранние изменения свойств и поведения клеток при действии повреждающих агентов связаны с изменениями функционирования мембранных структур клетки: цитоплазматической мембраны, внутренней мембраны митохондрий, мембран эндоплазматического ретикулума и других внутриклеточных структур (см. табл. 3-4).

Биологические мембраны выполняют множество функций, нарушение любой из которых может привести к изменению жизнедеятельности клетки в целом и даже к ее гибели. На рис. 3-1 дано схематическое изображение типичной мембраны с указанием тех ее элементов, повреждение которых может иметь место в патологии и лежать в основе развития различных заболеваний.

**Таблица 3-4.**Ранние изменения в функционировании внутриклеточных структур при повреждении

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| **Изменения Проявления** |
| Увеличение проницаемости цитоплазматической мембраны | Увеличение электропроводности тканей Увеличение связывания красителей Изменение мембранного потенциала Выход К+ из клетки Выход метаболитовУвеличение объема (набухание) клеток Увеличение внутриклеточной концентрацииСа2+ |
| Нарушение структуры и функций митохондрий | Снижение потребления кислорода Увеличение проницаемости внутренней митохондриальной мембраны Набухание митохондрий Снижение Са2+-аккумулирующей способности |
| Ацидоз | Активация ?+/Н+-обменаПовышение внутриклеточной концентрацииNa+Набухание клеток |
| Повреждениеэндоплазматическогоретикулума | Выход Ca2+ в цитоплазму, нарушениесистемысинтеза белка |
| Изменение активности ферментов и рецепторов | Активация ферментов лизосом Активация эндонуклеаз, апоптоз |
| Повреждение генетического аппарата клетки | Повреждение рибосом |

Наиболее тяжелые последствия вызывает повреждение липидного слоя (или бислоя) мембраны. Липидный слой цитоплазматической и внутриклеточных мембран выполняет две основные функции - **барьерную**и **матричную (структурную).**Повреждение барьера приводит к нарушению регуляции внутриклеточных процессов и тяжелым расстройствам клеточных функций.

Изучение воздействия разного рода повреждающих агентов на изолированные клетки (например, эритроциты), митохондрии, фосфолипидные везикулы (липосомы), плоские бислойные липидные мембраны и другие модельные объекты показало, что в конечном счете существует всего четыре основных процесса, кото-

**Рис.**3**-1.**Элементы биологических мембран, подверженные повреждению: 1 - липидный бислой; 2 - монослой липидных молекул; 3 - гликолипиды; 4 - гликопротеины; 5 - микрофиламенты; 6 - микротубулы; 7 - ионный канал; 8 - ионный насос

рые непосредственно обусловливают нарушение целостности липидного бислоя в патологии:

1) механическое (осмотическое) растяжение мембраны;

2) перекисное окисление липидов;

3) действие мембранных фосфолипаз;

4) адсорбция на липидном слое полиэлектролитов, включая некоторые белки и пептиды.

Понимание роли мембран в развитии того или иного патологического состояния предполагает знание химических и физических условий протекания перечисленных выше процессов и результатов их действия на мембранные структуры, включая знание молекулярных механизмов действия каждого из них и биологические по-

следствия повреждения мембран для жизнедеятельности клетки и организма в целом.

3.2.1. Нарушение барьерной функции биологических мембран

Важную роль в повреждении мембран играют процессы их **механического растяжения**в результате нарушения осмотического равновесия в клетках. Если поместить эритроциты в гипотонический раствор, то вода будет входить в клетки, они примут сферическую форму, а затем произойдет гемолиз. Митохондрии также набухают в гипотонических средах, но происходит разрыв только внешней мембраны; внутренняя остается целой, хотя теряет способность задерживать небольшие молекулы и ионы. В результате митохондрии утрачивают способность к окислительному фосфорилированию.

|  |
| --- |
|  |

Сходные явления наблюдаются и в целых клетках и тканях в условиях патологии. Так, в результате активации фосфолипазы А2мембран митохондрий при гипоксии они становятся проницаемыми для ионов калия. Если в этих условиях восстановить оксигенацию ткани, то на мембранах митохондрий восстановится мембранный потенциал (со знаком «минус» внутри) и митохондрии будут «насасывать» ионы калия, вслед за которыми в матрикс входит фосфат. Концентрация ионов внутри митохондрий возрастает, и органеллы набухают. Это приводит к растяжению мембран и их дальнейшему повреждению.

***Накопление ионов кальция в цитоплазме.***В нормальных клетках концентрация ионов кальция в цитоплазме исключительно низка: 10-7 М или даже 10-8 М, тогда как в окружающей клетку среде содержится 10-3 М ионов кальция. При этом следует иметь в виду, что ионы кальция проходят в клетку не только самопроизвольно (процесс «утечки» через мембрану), но и в некоторых клетках через кальциевые каналы в мембране. Эти каналы могут открываться в ответ на деполяризацию мембраны (потенциалзависимые кальциевые каналы) или присоединение гормонов и медиаторов к мембранным рецепторам (рецепторуправляемые кальциевые каналы). Компенсирует вход Са2+ в клетку работа трех типов кальцийтранспортирующих систем: кальциевого насоса (Са2+/Мg2+-АТФаза) в мембране саркоплазматического ретикулума и плазмолемме, аккумуляции Са2+ в митохондриях и в некоторых клетках Na+/Ca2+- обменника, встроенного в плазмолемму.

При повреждении клетки нарушается работа митохондрий: снижается мембранный потенциал внутренней митохондриальной мембраны, прекращается окислительное фосфорилирование. Как следствие снижения мембранного потенциала уменьшается поглощение митохондриями ионов кальция. Снижение концентрации АТФ в клетке приводит к угнетению Са2+/Мg2+-АТФазы плазматической мембраны и мембраны саркоплазматического ретикулума. Увеличение концентрации Na+ в клетке вследствие угнетения натриевого насоса при недостатке АТФ приводит к выключению и даже обращению направления Na+/Са2+-обмена через плазматическую мембрану. В результате этого происходит увеличение концентрации кальция от 10-8 М - 10-7 M до 10-6 М - 10-5 М, что приводит к активации большого числа кальцийзависимых ферментов (протеинкиназ, фосфатаз, фосфолипаз, фосфодиэстеразы циклических нуклеотидов и др.), нарушениям цитоскелета (см. раздел 3.4), образованию нерастворимых включений кальция в матриксе митохондрий, повреждению внутриклеточных мембран и общей дезорганизации метаболизма. Морфологически это проявляется в замедлении броуновского движения различных включений внутри клетки (увеличение «вязкости протоплазмы») и возрастании светорассеяния; красители начинают легче проникать в

|  |
| --- |
|  |

клетку и связываются в большом количестве с внутриклеточными структурами. Все эти признаки типичны для «неспецифической реакции клетки на повреждение» по Д.Н. Насонову и В.Я. Александрову (см. выше).

***Выход метаболитов.***Увеличение проницаемости мембраны клеток и ухудшение работы ионных насосов приводят к тому, что компоненты цитоплазмы выходят в окружающую среду. Вышедшие из клеток вещества отнюдь не безразличны для других клеток, тканей и органов. Так, среди веществ, выходящих из клеток, поврежденных в результате ишемии (нарушения кровотока) или ожога, имеются полипептиды, обладающие способностью вызвать остановку сердца (ишемический, ожоговый токсины). Обнаружение этих веществ осуществляется различными методами, включая измерение хемилюминесценции плазмы крови, интенсивность которой снижается в присутствии полипептидных токсинов.

***Увеличение объема (набухание) клеток.***Увеличение объема клеток - один из наиболее ранних признаков ее повреждения, который проявляется, например, при недостатке кислорода в ткани - тканевой гипоксии. Сохранение нормальной формы и объема клеток связано с состоянием цитоскелета и поддержанием определенного соотношения между осмотическим давлением белков и электролитов внутри и вне клетки. При этом форма клетки определяется в большей мере цитоскелетом, тогда как объем - поддержанием осмотического баланса. Поскольку все биологические мембраны хорошо проницаемы для воды, но плохо проницаемы для большинства растворенных в воде веществ, включая соли, клетки, так же как и внутриклеточные структуры, например митохондрии, обладают свойством осмометра: их объем изменяется при изменении концентрации ионов и молекул внутри и вне клетки или органеллы. В нормальных условиях соотношение концентраций всех ионов и молекул внутри и вне клетки строго поддерживается. Как только в цитоплазме начинает увеличиваться концентрация ионов или молекул, объем клетки возрастает, поскольку вода поступает внутрь. Выкачивание ионов мембранными насосами и обменниками сопровождается восстановлением ее объема за счет выхода вслед за ионами избытка воды.

|  |
| --- |
|  |

Отек клетки связан с нарушением регуляции ее объема со стороны плазматической мембраны. В нормальных клетках концентрация белка выше, чем вне клеток, вследствие чего клетки млекопитающих обладают более высоким внутриклеточным

коллоидно-осмотическим (онкотическим) давлением, чем внеклеточная жидкость. Это неизбежно привело бы к увеличению объема клетки, если бы для уравновешивания этого «избыточного» давления не происходило удаление (выкачивание) ионов натрия из клетки за счет работы энергозависимой Na+/К+-АТФазы. Поскольку мембрана клеток хорошо проницаема для ионов хлора, то вместе с натрием выходит и хлор за счет разности потенциалов на мембране. Иначе говоря, натриевый насос удаляет из клетки NaCl и снижает концентрацию ионов в цитоплазме, что приводит к уменьшению клеточного объема. Этому процессу противостоит процесс самопроизвольного поступления натрия внутрь клетки через дефекты в липидном бислое, натриевые каналы, переносчики, сопрягающие вход натрия с транспортом сахаров и аминокислот в клетку, Na+/H+- и Na+/Ca2+-обменники, а также Na+/К+/2С1- котранспортер.

Таким образом, живая клетка находится в состоянии динамического равновесия, при котором «протечка» клеточной мембраны компенсируется постоянной работой ионной помпы (это так называемая гипотеза leakandpump).

При патологии может происходить либо увеличение ионной проницаемости клеточной мембраны (возрастание «протечки»), либо нарушение работы ионных насосов, например, при недостатке энергообеспечения вследствие гипоксии, действия цианидов или разобщителей окислительного фосфорилирования (динитрофенол). В опытах с изолированными клетками печени, почек и мозга было показано, что отравление солями ртути или других тяжелых металлов приводит к увеличению ионной проницаемости мембраны клеток (увеличению «протечки»), нарушению АТФ-зависимого транспорта и возрастанию объема клеток (т.е. набуханию ткани).

|  |
| --- |
|  |

Второй механизм набухания клеток при гипоксии - увеличение внутриклеточной осмотической нагрузки, вызванное накоплением метаболитов (катаболитов), таких как неорганический фосфат, лактат и пуриновые нуклеозиды.

Набухание клеток - процесс, далеко не безразличный для функционирования клеток и ткани в целом. Первым результатом этого оказывается сдавливание кровеносных сосудов и затруднение кровообращения. Так, при ишемии происходит набухание клеток, и последующее общее возобновление кровообращения не сразу и не всегда приводит к восстановлению жизнедеятельности ткани, потому как кровь не проникает в мелкие кровеносные со-

суды, сдавленные набухшими клетками. То же происходит при трансплантации органов. Иногда применяется предварительное промывание пересаженного органа гипертоническим раствором, который восстанавливает прежний объем клеток и нормализует микроциркуляцию.

«Порочный круг» клеточной патологии

Увеличение внутриклеточного содержания кальция и нарушение биоэнергетических функций митохондрий являются общими признаками для клеток, поврежденных в результате действия самых различных неблагоприятных факторов. Эти два события - не

|  |
| --- |
|  |

**Рис. 3-12.**«Порочный круг» клеточной патологии

простое следствие других изменений в поврежденных клетках: они лежат в основе нарушения функций поврежденных клеток и могут рассматриваться как главные звенья в цепи событий, приводящих к развитию **неспецифической реакции клеток на повреждение.**Взаимоотношения между первичным повреждением клеточных структур, процессами биоэнергетики и содержанием кальция в цитоплазме представлены в виде схемы на рис. 3-12.

Согласно схеме, первичными мишенями действия повреждающих агентов служат мембранные структуры клетки, в которых могут подвергаться разрушению липидный бислой, рецепторы, белковые переносчики ионов и молекул, ионные каналы, а также встроенные в мембраны ферменты, включая ионные насосы. Увеличение проницаемости мембран и подавление работы ионных насосов, непосредственно вызванные действием повреждающих факторов (токсические соединения, свободные радикалы и про-

дукты липидной пероксидации, недостаток АТФ и т.д.), приводят к увеличению концентрации натрия и кальция в цитоплазме. Последнее сопровождается дисбалансом внутриклеточных сигнальных систем и активацией ряда ферментов, включая некоторые протеазы, фосфатазы, эндонуклеазы и фосфолипазу Гидролиз мембранных фосфолипидов фосфолипазой приводит к дальнейшему нарушению барьерных свойств липидного бислоя, что вызывает еще более выраженное увеличение уровня кальция в цитоплазме, набухание митохондрий и их повреждение. «Порочный круг» замыкается, и клетка может погибнуть.