

Десяте видання – важлива віха в житті книги. Ця подія є гарною нагодою, щоб озирнутися на витоки підручника «Основи патології» і проаналізувати їх, цитуючи передмову Стенлі Роббінса до першого видання (1971):

«На прикладі книг, так само як і серед людей, можна простежити, що більш масивні одиниці містять менші, які «намагаються» виокремитися. У певному сенсі це видання має таке саме відношення до його фундаментального попередника – «Патології Роббінса». Книга є наслідком розуміння сучасної дилеми медичної освіти. Оскільки навчальну програму перероблено так, щоб акцентувати увагу на клінічному досвіді, час для читання відповідно скоротився...

При написанні цієї книги випадки рідкісної патології вилучено, а нечасті або тривіальні – описано стисло. Однак ми вважали за необхідне досить докладно розглянути основні хвороби людини».

Хоча цілі «дитини Роббінса» відповідають баченню Стенлі Роббінса, це видання було переглянута на основі кількох додаткових принципів.

- По-перше, очевидно, що розуміння механізмів захворювання більше спирається на міцну основу фундаментальної науки. Згідно з цим ми завжди обговорювали відповідну клітинну та молекулярну біологію під час опису морфології в різних главах. У цьому виданні ми йдемо на один крок далі й представимо нову главу під назвою «Клітина як одиниця здоров'я і хвороби» на початку книги. У ній ми намагалися описати аспекти клітинної та молекулярної біології, які, на нашу думку, є корисними для підготовки читачів до обговорення конкретних захворювань. Це, по суті, курс перепідготовки у клітинній біології.
- По-друге, як викладачі, ми добре усвідомлюємо, що студенти-медики відчують переваженість через швидке збільшення обсягу інформації про молекулярні основи захворювання. Тому ми виключили ті нові «прориви» в лабораторній науці, які ще не дійшли до клініки. Наприклад, препарати, спрямовані на мутації ракових клітин, які ще перебувають на стадії клінічних випробувань, не обговорювалися, окрім тих рідкісних випадків, коли докази ефективності вже близько. Під час опису генетично неоднорідних розладів ми зосередилися на найпоширеніших мутаціях, не перераховуючи всі пов'язані з ними гени та поліморфізми. У такий спосіб ми намагалися збалансувати дискусію щодо прогресу в науці й потреби студентів на ранніх стадіях своєї кар'єри. Це вимагало, щоб ми читали

кожну главу так, наче це було написано *de novo*, і в багатьох випадках видалили частини тексту, наявні в попередньому виданні. Сподіваємося, що ці зміни «розвантажать» студентів і що десяте видання розглядатиметься як оновлена, але проста для розуміння книга.

- По-третє, оскільки ілюстрації полегшують розуміння складних концепцій, зокрема таких, як контроль клітинного циклу та дія онкогенів, вони були переглянуті й поліпшені шляхом додавання глибини, тому чотириколіорові рисунки можна побачити у трьох вимірах.
- Нарешті, ми включили групу клінічних консультантів, які допомагали нам точно передати клінічну частину тексту й оновити її.

Як додатковий «інструмент», що допоможе студентам зосередитися на фундаментальних принципах, ми продовжили традицію використання резюме, призначених для стислого викладення ключової інформації. Вони були збережені, незважаючи на те що до книги додалася певна кількість сторінок, оскільки студенти одноставно заявили, що вважають їх корисними.

Попри те що ми вступили в геномну епоху, перевірені часом інструменти макро- і мікроскопічного аналізу залишаються затребуваними, а морфологічні зміни було виділено для зручності посилання. Висвітлено клініко-патологічні кореляції та вплив молекулярної патології на практику медицини. Ми раді, що все це було зроблено без значного «погладшання» книги.

Ми й надалі твердо віримо в те, що чіткість викладу думок і правильне використання мови поліпшують розуміння та полегшують процес навчання. Ті, хто знайомий із попередніми виданнями, помітять значну реорганізацію тексту в багатьох главах, щоб поліпшити виклад інформації і зробити його більш логічним. Ми зараз живемо в часи цифрових технологій, тому текст буде доступний в мережі Інтернет. Окрім того, буде описано понад 100 оновлених клінічних випадків, розроблених одним із нас (В.К.); вони пов'язані з електронною версією тексту. Сподіваємося, що розгляд цих інтерактивних клінічних випадків допоможе у вивченні патології захворювань людини*.

Ми маємо привілей редагувати цю книгу й відчуваємо велику довіру до нас студентів і викладачів основ патології. Усвідомлюємо свою відповідальність і сподіваємося, що ця книга стане гідним внеском у зібрання попередніх видань і, можливо, посилить їхні традиції.

* Усі згадки про можливість використання електронних ресурсів, як правило, стосуються англійського оригіналу (примітка перекладача).

ГЛАВА 1.	Клітина як одиниця здоров'я і хвороби <i>Річард Н. Мітчелл</i>	1
ГЛАВА 2.	Ушкодження клітини, загибель клітини та адаптація	31
ГЛАВА 3.	Запалення і репарація	59
ГЛАВА 4.	Розлади гемодинаміки, тромбоемболія та шок	101
ГЛАВА 5.	Захворювання імунної системи	125
ГЛАВА 6.	Пухлини	195
ГЛАВА 7.	Генетичні та дитячі захворювання <i>Анірбан Маїтра</i>	253
ГЛАВА 8.	Хвороби, пов'язані із впливом навколишнього середовища та порушенням харчування	309
ГЛАВА 9.	Загальна патологія інфекційних хвороб <i>Александр Дж. МакАдам, Карен М. Франк</i>	351
ГЛАВА 10.	Кровоносні судини <i>Річард Н. Мітчелл</i>	373
	Предметний покажчик	413

Клітина як одиниця здоров'я і хвороби

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ

Геном 1	Біосинтетичний апарат: ендоплазматичний ретикулум та апарат Гольджі 12	Модульні сигнальні білки, хаби та вузли 19
Некодувальна ДНК 1	Утилізація відходів: лізосоми і протеасоми 13	Фактори транскрипції 19
Організація гістона 3	Клітинний метаболізм і функції мітохондрій 15	Фактори росту і рецептори 20
МікроРНК і довга некодувальна РНК 4	Активізація клітин 16	Позаклітинний матрикс 21
«Домашнє господарство» клітини 6	Сигнальна система клітини 16	Компоненти позаклітинного матриксу 23
Плазматична мембрана: захист і засвоєння поживних речовин 8	Шляхи проведення сигналу 17	Підтримання популяцій клітин 25
Цитоскелет 11		Проліферація та клітинний цикл 25
Міжклітинна взаємодія 12		Стовбурові клітини 27

Патологія дослівно перекладається як «наука про страждання» (від грец. *patos* – страждання, *logos* – наука), але в сучасній медицині цей термін вживають у значенні «наука про закономірності розвитку захворювання». Р. Вірхов, звичайно, вірно стверджував, що захворювання виникає на клітинному рівні, але тепер ми розуміємо, що клітинні розлади зумовлені змінами молекул (генів, білків та ін.), які впливають на виживання і поведінку клітин. Таким чином, в основі сучасної патології лежить розуміння клітинних і молекулярних аномалій, що спричинюють захворювання. Корисним буде розглянути ці відхилення в контексті нормальної структури та функції клітини, що і є предметом цієї глави.

Нереально (й навіть небажано) втискувати величезний і дуже цікавий розділ клітинної біології в одну главу. Отже, замість того щоб намагатися провести всеосяжний огляд, метою викладення матеріалу слугуватиме вивчення основних принципів та висвітлення останніх досягнень, що стосуються механізмів захворювання, на яких наголошено в іншій частині книги.

ГЕНОМ

Послідовність геному людини на початку ХХІ ст. стала знаковим досягненням біомедичної науки. З тих пір швидке зниження вартості визначення послідовності геному й обчислювальні можливості аналізу величезної кількості даних обіцяє революціонізувати наше уявлення про здоров'я і хвороби. Водночас нова інформація також виявила вражаючий рівень складності далеко за межами лінійної послідовності геному. Здатність цих нових потужних інструментів розширювати наше

розуміння патогенезу й розроблення лікувальних інновацій збуджують та надихають учених і громадськість рівною мірою.

Некодувальна ДНК

У геномі людини міститься близько 3,2 млн пар основ ДНК. Проте кількість генів, які кодують білок, становить приблизно 20 тис., тобто лише 1,5 % геному. Білки, кодовані цими генами, є основними складниками клітин, які функціонують як ферменти, структурні елементи і сигнальні молекули. Хоча 20 тис. – це занижена фактична кількість закодованих білків (багато генів продукують декілька транскриптів РНК, які кодують визначені ізоформи білків), проте все-таки вражає те, що хробаки, які складаються з менш ніж 1000 клітин із геномом у 30 разів меншим, також містять приблизно 20 тис. генів, які кодують білки. Можливо, ще більше вражає те, що переважна частина цих білків є впізнаними гомологами молекул, наявними в людині. Що ж тоді відрізняє людину від хробаків?

Відповідь на це запитання не повністю відома, але докази підтверджують постулат, що відмінність полягає в 98,5 % геному людини, який не кодує білки. Функція довгих ділянок ДНК (які також називали «темна матерія» геному) була таємничою протягом багатьох років. Однак тепер ясно, що понад 85 % геному людини врешті-решт піддаються транскрипції, майже 80 % регулюють експресію генів. Звідси випливає, що хоча білки забезпечують формування будівельних блоків і механізмів, необхідних для функціонування клітин, тканин та організмів, саме некодувальні ділянки геному відповідальні за дуже важливе «архітектурне планування».

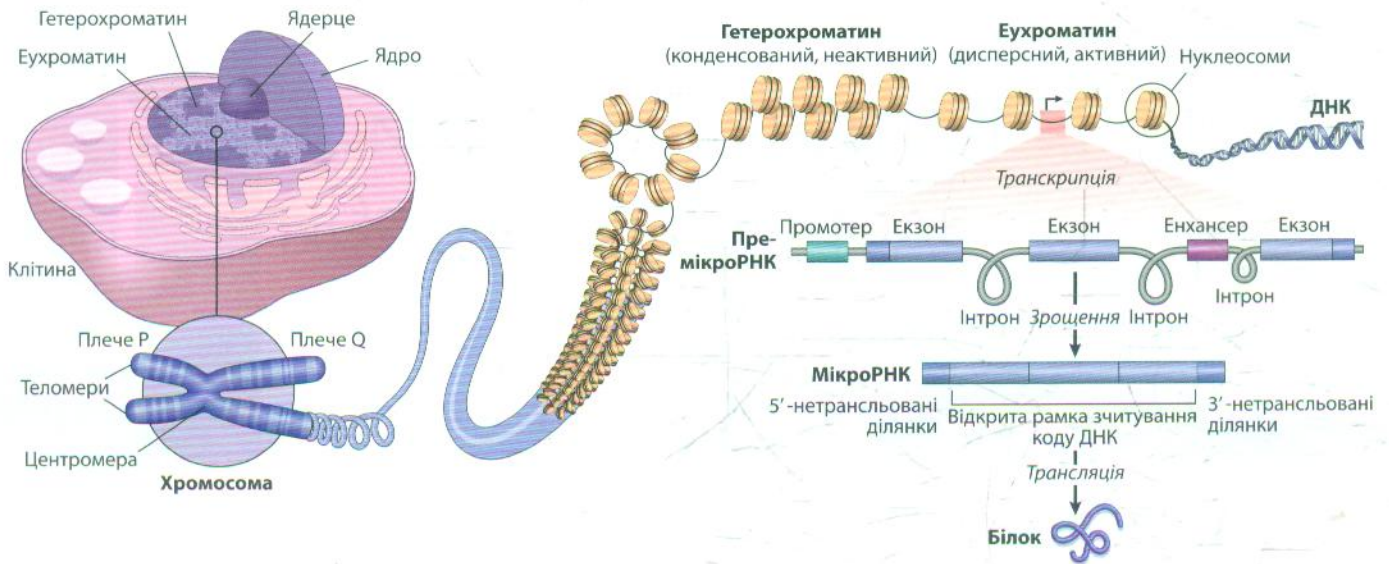


Рис. 1.1. Організація ядерної ДНК. На мікроскопічному рівні ядерний генетичний матеріал організований у дисперсний, транскрипційно активний *еухроматин* або конденсований, транскрипційно неактивний *гетерохроматин*; хроматин також може бути механічно зв'язаний із ядерною мембраною, і тому зміни останньої можуть впливати на транскрипцію. Хромосоми можна візуалізувати за допомогою світлової мікроскопії лише в процесі поділу клітини. Під час мітозу вони організовані в пару хроматид, що з'єднуються у *центромерах*; центромери є локусом для формування *кінетохорного* білкового комплексу, який регулює сегрегацію хромосом у метафазі. *Теломери* – це повторювані нуклеотидні послідовності, що замикають кінці хроматид й уможливають повторну реплікацію хромосом без втрати ДНК на кінцях хромосом. Хроматиди організовані в короткі плечі «Р» (від англ. *petite* – маленький) і довгі плечі «Q» (наступна буква в алфавіті). Характерний малюнок смуг хроматиди зумовлений відносним умістом гетерохроматину (менший його вміст у смугах порівняно із міжсмуговою ділянкою), а гени прагнуть локалізуватися у міжсмугових ділянках. Окремі волокна хроматину складаються із нитки нуклеосом, намотаних навколо октамерів ядер гістона і з'єднаних лінкерними ДНК. *Промотери* – це некодувальні ділянки ДНК, які ініціюють транскрипцію генів; вони розміщені на одній ділянці в напрямку, протилежному транскрипції асоційованого з ними гена. *Енхансери* є регуляторними елементами, які можуть модулювати експресію гена на відстань 100 кілобаз або більшу за допомогою повернення до початку транскрипції на промотери і набору додаткових факторів, необхідних для запуску експресії первинної мікроРНК (пра-мікроРНК). Інтронні послідовності потім з'єднуються із попередником мікроРНК (пре-мікроРНК) й утворюють остаточне повідомлення, яке включає екзони, трансформовані у білок, а також 3'- і 5'-нетрансльовані ділянки (НТД), які можуть мати функції регулювання. Окрім енхансера, промотера та послідовності НТД некодувальні елементи розміщені в усіх структурах геному; вони включають короткі повтoreння, регуляторні фактори, що зв'язують ділянки, некодувальні регуляторні РНК і транспозони

Основні класи функціональних послідовностей ДНК у геномі людини, які не кодують білки, включають (рис. 1.1):

- ділянки *промотора* й *енхансера*, які зв'язують фактори транскрипції білка;
- ділянки зв'язування білків, які організують і підтримують *структури хроматину* більш високого рівня;
- *некодувальні регуляторні РНК*. Із 80 % геному, призначеного для регуляторних функцій, переважна більшість транскрибується в РНК – мікроРНК та довгі некодувальні РНК (див. далі), які ніколи не трансльовуються в білок, але можуть регулювати експресію генів;
- *мобільні генетичні елементи* (наприклад, *транспозони*). Примітно, що більше ніж 1/3 геному людини складається з таких «стрибаючих генів». Ці елементи можуть мандрувати навколо геному і залучаються до регуляції генів й організації хроматину;
- спеціальні структурні ділянки ДНК, включаючи *теломери* (кінці хромосом) та *центромери* (обмежуючі хромосом).

Слід зазначити, що багато генетичних варіацій (*поліморфізмів*), пов'язаних із захворюваннями, розміщені в ділянках, які не кодують білки. Таким чином, зміна генної регуляції може виявитися важливішою в патогенезі захворювання, ніж структурні зміни специфічних білків. Ще один сюрприз, який виник із

послідовності геному, полягає в тому, що будь-які дві людини зазвичай на більше ніж 99,5 % ДНК-ідентичні (і на 99 % мають ідентичну послідовність із шимпанзе)! Отже, індивідуальна варіація, включаючи диференційовану схильність до захворювань і вплив навколишнього середовища, кодується у менше ніж 0,5 % нашої ДНК (важливо, що це становить близько 15 млн пар основ).

Двома найпоширенішими формами варіації ДНК в геномі людини є *однонуклеотидні поліморфізми* (ОНП) та *варіації кількості копій* (ВКК).

- ОНП є варіантами в однонуклеотидних позиціях і майже завжди *біалельні* (існує лише два варіанти на певному сайті в межах популяції, наприклад, А або Т). Було виявлено понад 6 млн ОНП людини, причому їх частота в різних популяціях дуже варіює. Заслужують на увагу такі функції:
 - ОНП трапляються в усіх структурах геному – екзонах, інтронах, інтергенних та кодувальних ділянках;
 - майже 1 % ОНП розміщені в кодувальних ділянках; цей відсоток можна було б визначити випадково, оскільки такі ділянки становлять близько 1,5 % геному;
 - ОНП, розміщені в некодувальних ділянках, можуть виникати в регуляторних елементах геному, тим самим змінюючи експресію гена; у таких випадках ОНП можуть безпосередньо впливати на схильність до захворювання;

- ОНП також можуть бути «нейтральними» варіантами, які не впливають на функцію гена або фенотип носіїв;
- навіть «нейтральні» ОНП можуть бути корисними маркерами, якщо вони успадковуються з асоційованим із хворобою геном унаслідок фізичної близькості. Іншими словами, ОНП і причинний генетичний фактор перебувають у *нерівноважному зчепленні*;
- вплив більшості ОНП на схильність до захворювання є слабким, і залишається з'ясувати, чи можна використовувати ідентифікацію таких варіантів окремо або в комбінації для розроблення ефективних стратегій прогнозування та профілактики захворювань.
- ВКК – форма генетичної варіації, яка складається з різної кількості великих сусідніх ділянок ДНК (від 1000 до мільйонів пар основ). У деяких випадках такі локуси, як ОНП, є біалельними і просто дублюються або видаляються в підгрупі населення. В інших випадках відбувається складна перебудова геномного матеріалу, причому в людській популяції містяться численні алелі. ВКК відповідають за кілька мільйонів пар основ різних послідовностей геному у будь-яких двох осіб. Приблизно 50 % ВКК містять

кодувальні послідовності, отже, можуть зумовлювати переважну частину фенотипового розмаїття людини.

Слід зазначити, що зміни в послідовності ДНК самі по собі не можуть зумовлювати розмаїття фенотипів у людській популяції; окрім того, класичне генетичне успадкування не може пояснити різні фенотипи у монозиготних близнят. Відповіді на ці загадки, ймовірно, полягають в *епігенетиці* – успадкованих змінах експресії генів, які не є наслідком змін у послідовності ДНК (див. далі).

Організація гістона

Незважаючи на те що майже всі клітини в організмі мають однаковий набір генів, у диференційованих клітинах є різні структури та функції, що виникають унаслідок лінійно-специфічних програм експресії генів. Такі специфічні для типу клітини відмінності в транскрипції і трансляції ДНК регулюються *епігенетичними* модифікаціями, які складаються з декількох змін, що значно впливають на експресію генів, у тому числі:

- **Організація хроматину** (рис. 1.2). ДНК геному упакована в нуклеосоми, які складаються зі 147 пар

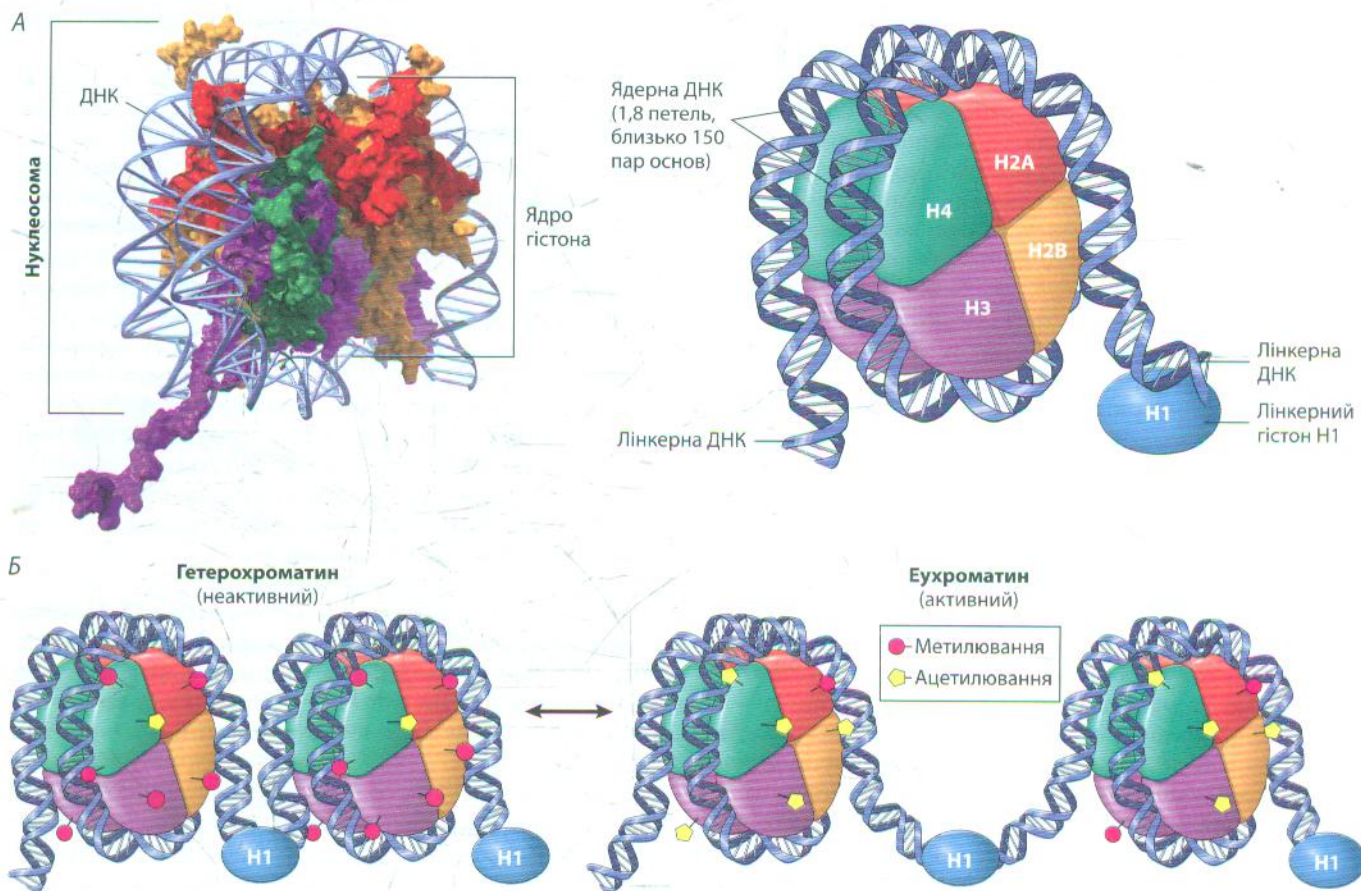


Рис. 1.2. Організація хроматину: А – нуклеосоми складаються з октамерів гістона (два з кожного підрозділу – H2A, H2B, H3 і H4), оточених петлями 1,8 із 147 пар основ ДНК; гістон H1 розміщений на 20–80 нуклеотидних лінкерних ДНК між нуклеосомами і допомагає стабілізувати загальну архітектуру хроматину. Субодиноці гістона позитивно заряджені, що уможливає згортання негативно зарядженої ДНК. Б – відносний стан розкручування ДНК (у такий спосіб – доступ до факторів транскрипції) регулюється модифікацією гістона, наприклад, шляхом ацетилювання, метилювання та/або фосфорилування (так звані знаки). Знаки динамічно записуються і стираються, деякі з них, зокрема ацетилювання гістона, «відкривають» структуру хроматину, тоді як інші, а саме метилювання певних залишків гістона, схильні до конденсації ДНК і призводять до посттранскрипційного сайленсінгу генів. Сама ДНК також може бути метильованою, що зумовлено інактивацією транскрипції

основ, що обернуті навколо центрального ядра білків, названих *гістонами*. Нуклеосоми нагадують намисто, з'єднане короткими лінкерними ДНК; уся структура загалом дістала назву «*хроматин*». Важливо, що згортання й конденсація хроматину у будь-якій клітині варіюють у різних ділянках геному. Отже, ядерний хроматин існує у двох основних формах (які можна візуалізувати за стандартною гістологічною методикою): (1) гістохімічно щільний і транскрипційно неактивний *гетерохроматин* і (2) гістохімічно дисперсний і транскрипційно активний *еухроматин*. Оскільки лише еухроматин уможливило експресію генів і тим самим забезпечує ідентичність та активність клітин, є багато механізмів, що регулюють стан хроматину (див. далі).

- **Метилювання ДНК.** Високий рівень метилювання ДНК в регуляторних елементах гена зазвичай призводить до конденсації хроматину й пригнічення транскрипції (сайленсингу). Як і модифікацію гістона (див. далі), метилювання ДНК регулюють метилтрансферази, деметилювальні ферменти і метильовані ДНК-зв'язувальні білки.
- **Модифікація гістона.** Нуклеосоми є високодинамічними структурами, регульованими низкою ядерних білків та посттрансляційними модифікаціями:
 - *комплекси ремоделювання хроматину* можуть переміщувати нуклеосоми на ДНК, розкриваючи (або закриваючи) регуляторні елементи гена, зокрема промотери;
 - *комплекси «записування хроматину»* виконують понад 70 різних ковалентних модифікацій гістона, загалом позначаються як *мітки*. До них належать метилювання, ацетилювання та фосфорилування специфічних амінокислотних залишків гістона: *гістонове метилювання* лізину й аргінінів здійснюється специфічними записувальними ферментами; метилювання залишків лізину може привести до активації або пригнічення транскрипції, залежно від того, який залишок гістона «помічено». *Гістонове ацетилювання* залишків лізину (що утворюються внаслідок дії гістонацетильтрансферази) має тенденцію до розгортання хроматину та посилення транскрипції; гістондеацетилази розвертають цей процес у зворотному напрямку, що призводить до конденсації хроматину. *Гістонове фосфорилування* залишків серину може або розгортати, або конденсувати хроматин, щоб, відповідно, посилити або загальмувати транскрипцію;
 - гістонові мітки є оборотними через активність «стирателів хроматину». Інші білки функціонують як «читачі хроматину», що зв'язують гістони з особливими мітками і в такий спосіб регулюють експресію генів.

Механізми, пов'язані із клітинно-специфічним епігенетичним регулюванням організації геному та експресії генів, є дуже складними. Незважаючи на тонкощі, можливість маніпулювання цими процесами, швидше за все, буде значним здобутком у лікуванні хвороб, оскільки багато з них пов'язані з успадкованими або набутими епігенетичними змінами, а пору-

шена регуляція «епігеному» відіграє центральну роль у розвитку доброякісних і злоякісних новоутворень (глава 6). Окрім того, на відміну від генетичних змін, епігенетичні зміни (наприклад, ацетилювання гістона та метилювання ДНК) є оборотними, отже, можуть піддаватися втручанням; дійсно, інгібітори гістондеацетилази й інгібітори метилювання ДНК вже використовують для лікування різних форм раку.

МікроРНК і довга некодувальна РНК

Інший механізм регуляції генів залежить від функцій некодувальних РНК. Як випливає з назви, їх кодують гени, які транскрибуються, але не транлюються. Хоча існує багато різних сімейств некодувальних РНК, тут розглянуто лише два приклади: невеликі молекули РНК, що називаються мікроРНК, і довгі некодувальні РНК, які містять понад 200 нуклеотидів.

- **МікроРНК** – відносно короткі РНК (у середньому 22 нуклеотиди), які функціонують насамперед для регулювання трансляції цільових мРНК у відповідні білки. **Посттранскрипційний сайленсинг експресії генів, який виконують мікроРНК, є основним й еволюційно консервативним механізмом регуляції генів, наявним у всіх еукаріотів (рослин і тварин).** Навіть бактерії мають примітивну версію цього загального механізму, який вони використовують, щоб захистити себе від чужорідної ДНК (наприклад, від фагів і вірусів).
- Геном людини містить майже 6000 генів мікроРНК, що лише в 3,5 раза менше від кількості генів, які кодують білки. Також окремі мікроРНК регулюють декілька генів, які кодують білок, що дає змогу кожній мікроРНК корегулювати програми експресії генів. Унаслідок транскрипції генів мікроРНК формується первинний транскрипт, який поступово обробляється в менші сегменти, включаючи обрізання ферментом *дайсер*. Це зумовлює утворення зрілих одноланцюгових мікроРНК (від 21 до 30 нуклеотидів), що асоціюються із багатобілковим комплексом, який називається РНК-індукованим комплексом сайленсингу (RISC, рис. 1.3). Подальше зв'язування основ одноланцюгової мікроРНК та її мішені – мРНК спрямовує RISC або на індукцію розщеплення мРНК, або на пригнічення її трансляції. Отже, мРНК зазнає *посттранскрипційного сайленсингу*.

Це можна використовувати в такий спосіб. *Невеликі інтерференційні РНК (siRNA)* – короткі послідовності РНК, які можна вводити в клітини. Вони слугують основою для фермента дайсер і взаємодіють із комплексом RISC аналогічно до ендогенних мікроРНК. Синтетичні siRNA, які можуть спрямовувати специфічні види мРНК, є потужними лабораторними інструментами для вивчення функції генів («технологія нокадауну»); вони також перспективні як лікувальні фактори для сайленсингу патогенних генів, наприклад, онкогенів, що беруть участь у неопластичних перетвореннях.

- **Довга некодувальна РНК (lncRNA).** Геном людини також містить дуже велику кількість lncRNA – принаймні 30 тис., причому загальна кількість потенційно перевищує кількість кодувальних мРНК у 10–20 разів. lncRNA регулюють експресію генів



Рис. 1.3. Утворення мікроРНК та їхній механізм регуляції функцій гена. Унаслідок транскрипції генів мікроРНК утворюється первинна мікроРНК (пра-мікроРНК), яка обробляється в ядрі з утворенням пре-мікроРНК, що складається з одного ланцюга РНК із вторинними петлями у вигляді шпильки, які забезпечують подовження дволанцюгової РНК. Після того як пре-мікроРНК експортується з ядра за допомогою специфічних транспортних білків, цитоплазматичний фермент дайсер обробляє пре-мікроРНК з утворенням зрілих дволанцюгових мікроРНК, які містять від 21 до 30 нуклеотидів. МікроРНК згодом розкручується, й одержані одиничні ланцюги вводяться у багатобілковий РНК-індукований комплекс сайленсінгу (RISC). Зв'язування основ одноланцюгової мікроРНК та її мішені – мРНК – спрямовує RISC або на індукцію розщеплення мРНК, або на пригнічення її трансляції. Таким чином, ген мРНК зазнає посттрансляційного сайленсінгу.

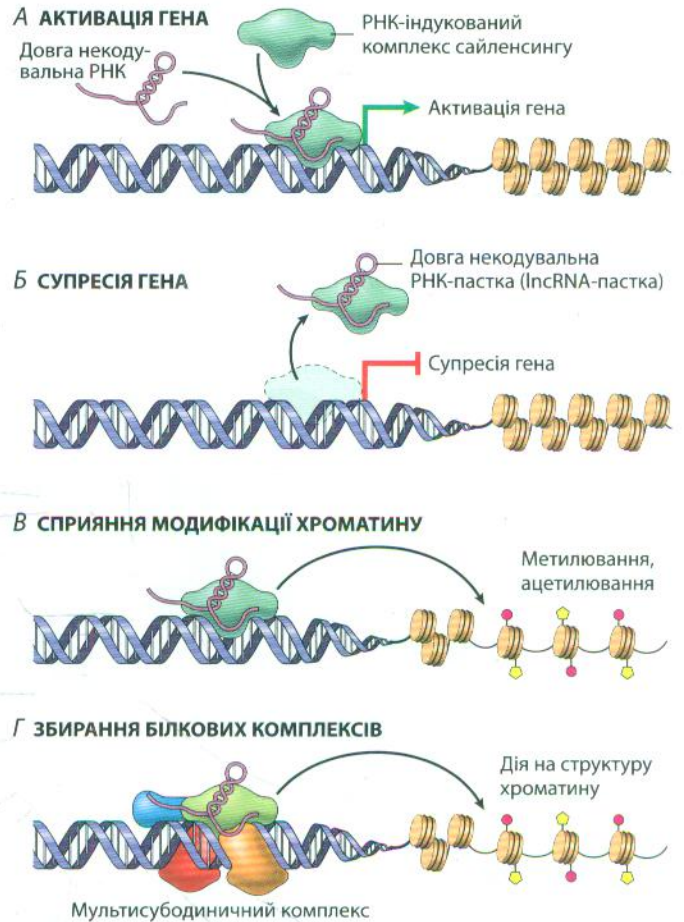


Рис. 1.4. Роль довгих некодувальних РНК (lncRNA): А – lncRNA можуть полегшити зв'язування факторів транскрипції і в такий спосіб сприяти активації гена. Б – навпаки, lncRNA можуть переважно зв'язувати фактори транскрипції і тим самим запобігати транскрипції генів. В – модифікація гістона та ДНК ацетилазами або метилазами (або деацетилазами і деметилазами) може бути зумовлена зв'язуванням lncRNA. Г – в інших випадках lncRNA можуть виконувати роль риштування для стабілізації вторинних чи третинних структур та/або мульти-субодиночних комплексів, які впливають на загальну архітектуру хроматину чи активність генів. (За даними K.C. Wang, H.Y. Chang: *Molecular mechanisms of long noncoding RNAs*, Mol Cell 43:904, 2011.)

кількома способами (рис. 1.4); наприклад, вони можуть зв'язуватися з ділянками хроматину, обмежуючи доступ РНК-полімерази до кодувальних генів у межах ділянки. Найвідомішим прикладом репресивної функції є XIST, який транскрибується з Х-хромосоми і відіграє важливу роль у фізіологічній її інактивації. XIST сам уникає Х-інактивації, але формує репресивний «плащ» на Х-хромосомі, з якої транскрибується, призводячи до сайленсінгу гена. І навпаки, було визнано, що багато ехансерів є сайтами синтезу lncRNA, при цьому останні розширюють транскрипцію промоторів гена за допомогою різних механізмів (див. рис. 1.4). Сучасні дослідження вивчають роль lncRNA у патогенезі таких захворювань, як атеросклероз і рак.

Редагування генів

Цікаві нові розробки, що дають змогу дуже специфічно редагувати геном, мають усі шанси розпочати еру молекулярної революції. Джерело таких успіхів цілком

несподіване: відкриття кластерованих регулярно перехресних коротких паліндромних повторень (CRISPR) та Cas (або CRISPR-асоційованих генів). Це зв'язані генетичні елементи, які наділяють прокаріоти чимось подібним до набутого імунітету до фагів і плазмід. Бактерії використовують таку систему для збирання зразків ДНК інфекційних агентів, включивши її в геном хазяїна у формі CRISPR. Останні транскрибуються і вбудовуються у послідовність РНК, яка зв'язує і направляє нуклеазу Cas9 на інші послідовності (наприклад,

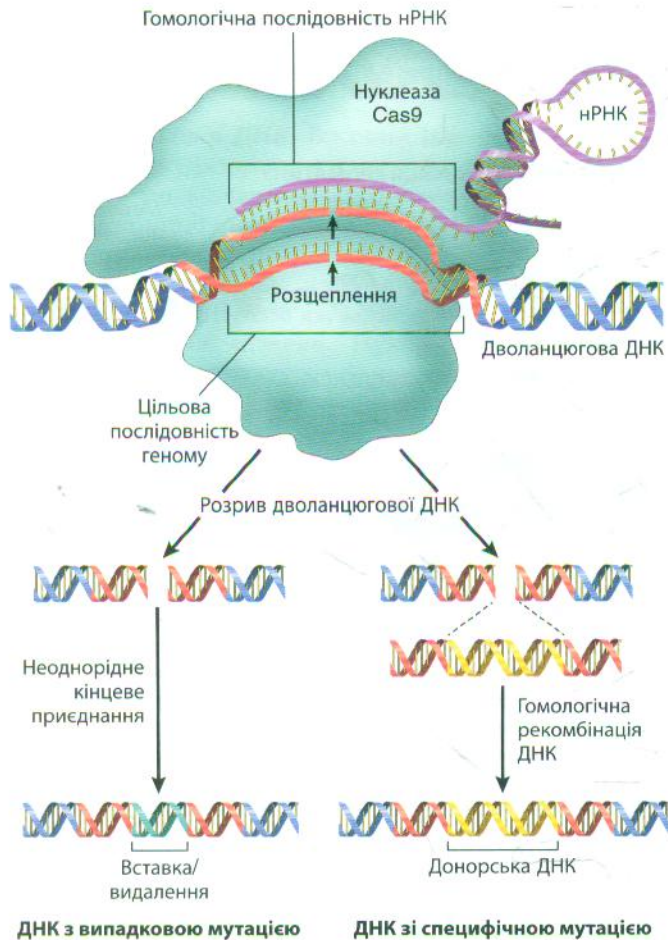


Рис. 1.5. Редагування гена із кластерованими регулярно перехресними короткими паліндромними повтореннями (CRISPR)/Cas9. У бактеріях послідовності ДНК, що складаються із CRISPR, транскрибуються в напрямні РНК (нРНК) із постійною ділянкою і змінною послідовністю із приблизно 20 основ. Постійні ділянки нРНК зв'язуються із Cas9, що дає змогу змінним ділянкам утворювати гетеродуплекси з гомологічними послідовностями ДНК клітини-хазяїна. Нуклеаза Cas9 потім розщеплює зв'язану ДНК, зумовлюючи дволанцюговий розрив ДНК. Для редагування гена нРНК мають варіабельні ділянки, які є гомологічними до цільової послідовності ДНК. Коекспресія нРНК та Cas9 у клітинах призводить до ефективного розщеплення цільової послідовності. За відсутності гомологічної ДНК розірвана ДНК відновлюється шляхом неоднорідного кінцевого приєднання (НКП) – методу, який часто застосовується при помилках і нерідко здійснює руйнівні вставки або видалення (інделі). І навпаки, за наявності гомологічної «донорської» ДНК, що охоплює ділянку, орієнтовану CRISPR/Cas9, клітини замість цього можуть використовувати гомологічну рекомбінацію ДНК (ГРД) для відновлення розриву ДНК. ГРД менш ефективна, ніж НКП, але здатна вносити точні зміни в послідовність ДНК. Потенційне застосування CRISPR/Cas9 у поєднанні з ГРД передбачає відновлення спадкових генетичних дефектів й утворення патогенних мутацій

фаг), що призводить до їх розщеплення та руйнування фага. Редагування генів переорієнтовує цей процес, використовуючи штучні напрямні РНК (нРНК, gRNA), що зв'язують Cas9 і є комплементарними послідовності ДНК, яка становить інтерес. Після того як нРНК визначила напрямок дії, Cas9 індукуює дволанцюгові розриви ДНК.

Відновлення отриманих високоспеціалізованих ділянок розщеплення може призвести до відносно випадкових руйнівних мутацій у цільових послідовностях (через неоднорідне кінцеве приєднання) або точного введення нових послідовностей, що становлять інтерес (за допомогою гомологічної рекомбінації). Як нРНК, так і нуклеаза Cas9 можна доставити до клітин за допомогою однієї плазмиди, яку легко побудувати (рис. 1.5). Проте справжня краса системи (її захоплюючий генноінженерний потенціал) пов'язана з її вражаючою гнучкістю та специфічністю, що значно краще, ніж інші попередні системи редагування. Застосування передбачає введення специфічних мутацій у геноми клітин для моделювання ракових та інших захворювань і швидкого розвитку трансгенних тварин із відредагованих ембріональних стовбурових клітин. З іншого боку, зараз є можливість вибірково «виправляти» мутації, які спричиняють спадкову хворобу або, ймовірно, – просто усунути менш «бажані» ознаки. Цілком прогнозовано, що ця технологія зумовила активну дискусію щодо її застосування.

«ДОМАШНЄ ГОСПОДАРСТВО» КЛІТИНИ

Життєздатність і нормальна активність клітин залежать від різних фундаментальних функцій ведення «домашнього господарства», які мають виконувати всі диференційовані клітини.

Багато нормальних функцій ведення «домашнього господарства» розподіляються між зв'язаними з мембранами внутрішньоклітинними органелами (рис. 1.6). Оскільки клітини у різних компартментах мають певні функції, потенційно шкідливі деструктивні ферменти чи реакційні метаболіти можуть нагромаджуватися або зберігатися у високих концентраціях у специфічних органелах, без ризику ураження інших елементів клітини. Окрім того, компартменталізація дає змогу створювати унікальні внутрішньоклітинні середовища (наприклад, низький рН або високий уміст Ca^{2+}), які є оптимальними для певних ферментів чи шляхів метаболізму.

Нові білки, призначені для плазматичної мембрани або секреції, синтезуються в шорсткому ендоплазматичному ретикулумі (ЕР), а збирання їх відбувається в апараті Гольджі; білки цитозоллю продукуються на вільних рибосомах. Кількість гладкого ендоплазматичного ретикулуму може бути надлишковою у певних типах клітин, таких як статеві клітини й гепатоцити, де він слугує місцем синтезу стероїдних гормонів і ліпопротеїдів, а також зоною модифікації гідрофобних сполук, зокрема лікарських засобів, у водорозчинні молекули для виведення з організму.

У клітинах відбувається катаболізм численних молекул, захоплених шляхом ендоцитозу, а також власних білків й органел – усі вони постійно деградують та

Внутрішньоклітинні елементи гепатоцита

Органели	Загальний об'єм	Кількість у клітині	Роль у клітині
Цитозоль	54 %	1	Метаболізм, транспорт, трансляція білка
Мітохондрії	22 %	1700	Вироблення енергії, апоптоз
Шорсткий ЕР	9 %	1*	Синтез мембранних та секретованих білків
Гладкий ЕР	6 %	1*	Модифікація, сортування, катаболізм білків
Ядро	6 %	1	Регуляція, проліферація клітин, транскрипція ДНК
Ендосоми	1 %	200	Внутрішньоклітинний транспорт та експорт, поглинання позаклітинних речовин
Лізосоми	1 %	300	Клітинний катаболізм
Пероксисоми	1 %	400	Метаболізм довголанцюгових жирних кислот

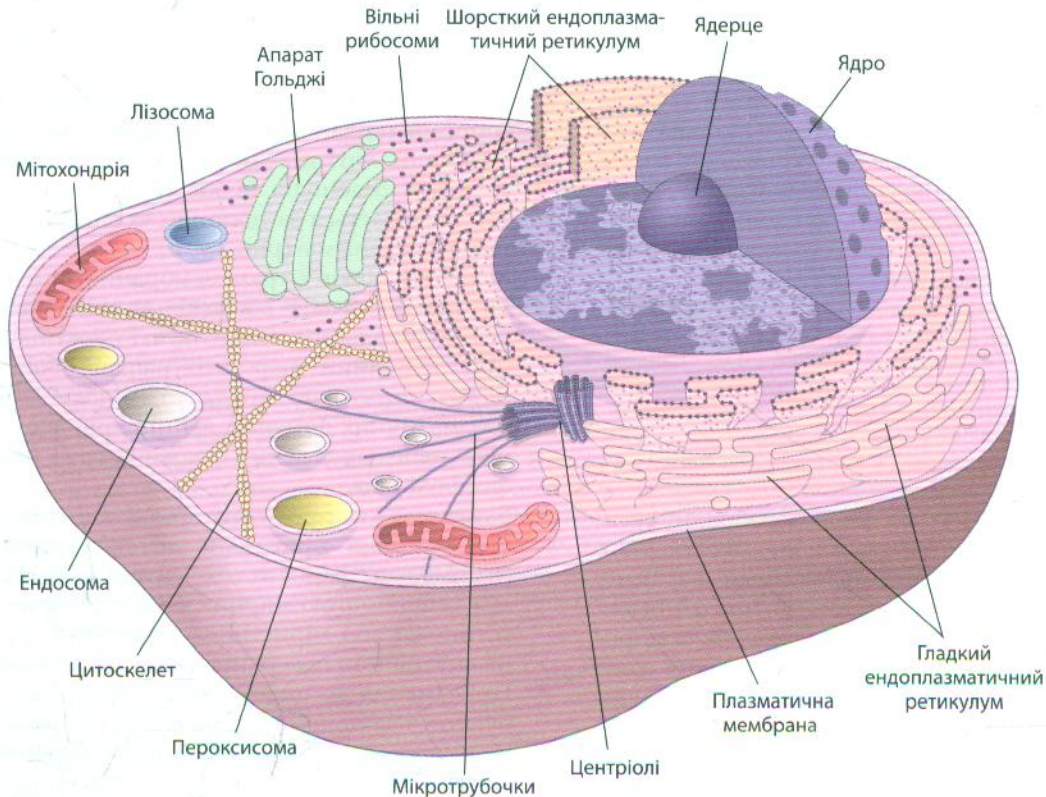


Рис. 1.6. Основні внутрішньоклітинні органели. У таблиці представлено кількість різних органел та їх загальний об'єм у гепатоциті. На рисунку показані географічні зв'язки, не призначені для точного масштабування. * Шорсткий та гладкий ендоплазматичний ретикулум утворюють єдиний сектор; апарат Гольджі організований як комплекс окремих ущільнених цистерн, з'єднаних між собою транспортними везикулами. (За даними E.R. Weibel, W. Stäubli, H.R. Gnägi et al.: *Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell. I. Morphometric model, stereologic methods, and normal morphometric data for rat liver*, J Cell Biol 42:68, 1969.)

оновлюються. Розщеплення цих компонентів здійснюють три елементи, які по суті виконують різні функції:

- **протеасоми** – комплекси, які можуть бути утилізовані; вони зумовлюють деградацію денатурованих або інакше «позначених» білків цитозолу і вивільняють короткі пептиди. У деяких випадках пептиди, утворені в такий спосіб, входять до складу основних молекул головного комплексу гістосумісності (МНС) І класу, які допомагають керувати адаптивною імунною відповіддю (глава 5). В інших випадках протеасомна деградація регуляторних білків або факторів транскрипції може активувати чи гальмувати шляхи сигналізації клітин;
- **лізосоми** – внутрішньоклітинні органели, які містять ферменти, що перетравлюють широкий спектр макромолекул, включаючи білки, полісахариди, ліпіди та нуклеїнові кислоти. За допомогою лізосом руйнуються і видаляються фагоцитовані мікроби й uszkodжені чи небажані органели;

- **пероксисоми** – спеціалізовані внутрішньоклітинні органели, що містять каталазу, пероксидазу та інші окисні ферменти. Вони відіграють особливу роль у розщепленні довгих ланцюгів жирних кислот, унаслідок чого утворюється водню пероксид.

Кількість і розміщення органел також підлягають регулюванню. *Ендосомальні везикули* доставляють матеріал, який опинився усередині клітини, до відповідних внутрішньоклітинних ділянок або спрямовують новосинтезовані компоненти до клітинної оболонки чи цільових органел. Рух як органел, так і білків усередині клітини, а також самої клітини в її середовищі забезпечує цитоскелет; він також регулює форму клітини та внутрішньоклітинну організацію, які необхідні для підтримання *полярності клітини*. Це особливо важливо в епітелії, в якому верхній (*апикальний*), а також нижній та бічний (*базолатеральні*) домени клітини часто зазнають впливу різних середовищ і мають відмінні функції.