

## КЛИНИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ: ЯДЕРНЫЙ АППАРАТ ГЕПАТОЦИТОВ

В. П. Андреев, В. М. Цыркунов, Р. И. Кравчук

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

*Введение.* Изменение архитектуры ядра гепатоцита при воздействии патогенов на ткань печени имеет диагностическое и прогностическое значение. При морфологическом изучении ткани печени при хронической HCV-инфекции возникает трудность в оценке жизнеспособности гепатоцитов и их органелл в условиях различных механизмов непрограммируемой и управляемой гибели клеток.

Цель исследования – представить имеющиеся в литературе данные и результаты собственных исследований структурной архитектуры ядер гепатоцитов и их компонентов при хроническом гепатите С (ХГС).

*Материал и методы.* Исследованы прижизненные биоптаты печени у 18 пациентов с ХГС. Применялись методы визуализации: световая и электронная микроскопия, включая исследование полутонких срезов, разные методы фиксации и окраски.

*Результаты.* Представлены результаты морфологических исследований авторов, демонстрирующие изменения структурно-функциональной характеристики ядерного аппарата гепатоцитов и компонентов ядра с подробным описанием и интерпретацией изменений (полиплоидия, ядерная оболочка, нуклеоплазма, хромосомы, перихроматиновые фибриллы, интерхроматиновые и перихроматиновые гранулы, ядрышко, ядрышковый стресс, репликация HCV и другие).

*Заключение.* При хронической HCV-инфекции происходят изменения во всех компонентах ядерного аппарата, характеризующих структурно-функциональную характеристику гепатоцитов. Оценка архитектурной организации ядерного аппарата в гепатоцитах позволяет предоставить патоморфологам и клиницистам (гепатологам) ценные дополнительные данные, указывающие на важное прикладное значение изменений параметров ядерного аппарата гепатоцитов при ХГС, что будет способствовать более точному мониторингу инфекционного процесса и ускоренной диагностике его трансформации в злокачественный рост.

**Ключевые слова:** гепатоциты, ядерный аппарат, компоненты ядра, HCV-инфекция.

## CLINICAL LIVER MORPHOLOGY: THE NUCLEAR APPARATUS OF HEPATOCYTES

V. P. Andreev, V. M. Tsyркunov, R. I. Kravchuk

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

*Background.* Changes in the architecture of the hepatocyte nucleus resulting from liver tissue exposure to pathogens have diagnostic and prognostic significance. In morphological study of liver tissue in chronic HCV infection there is a difficult with the viability assessment of hepatocytes and their organelles in the presence of various mechanisms of non-programmed and controlled cell death.

*Objective.* To present the data available in literature and the results of our own studies of structural architecture of hepatocyte nuclei and their components in chronic hepatitis C (CHC).

*Material and methods.* The intravital liver biotates of 18 patients with CHC (who had given a written informed consent) were studied. Some visualization methods were used: light and electron microscopy, including examination of semi-thin sections, various methods of fixation and staining.

*Results.* The results of the authors' morphological studies are presented, demonstrating some changes in structural and functional characteristics of the nuclear apparatus of hepatocytes and nuclear components with a detailed description and interpretation of the changes (polyploidy, nuclear envelope, nucleoplasm, chromosomes, perichromatin fibrils, interchromatin and perichromatin granules, nucleolus, nucleolar stress and replication others).

*Conclusion.* In chronic HCV infection, changes occur in all components of the nuclear apparatus characterizing structural and functional features of hepatocytes. The assessment of architectural organization of the nuclear apparatus in hepatocytes provides pathomorphologists and clinicians (hepatologists) with valuable additional data indicating the applied significance of the changes in the parameters of the nuclear apparatus of hepatocytes in CHC, that in its turn, will contribute to more accurate monitoring of the infectious process and accelerated diagnosis of its transformation into malignant growth.

**Keywords:** hepatocytes, nuclear apparatus, nuclear components, HCV infection.

**Автор, ответственный за переписку:**

Андреев Виктор Павлович, к.б.н., профессор; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: andrvp@yandex.ru

**Corresponding author:**

Andreev Viktor, PhD (Biology), Professor; Grodno State Medical University; e-mail: andrvp@yandex.ru

**Для цитирования:** Андреев, В. П. Клиническая морфология печени: ядерный аппарат гепатоцитов / В. П. Андреев, В. М. Цыркунов, Р. И. Кравчук // Гепатология и гастроэнтерология. 2020. Т. 4, № 2. С. 126-142. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-126-142>.

**For citation:** Andreev VP, Tsyrcunov VM, Kravchuk RI. Clinical liver morphology: nuclear apparatus of hepatocytes. *Hepatology and Gastroenterology*. 2020;4(2):126-142. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-126-142>.

## Введение

Научная парадигма, утверждающая принцип единства морфологической структуры и функции, уверенно закрепляется в сознании и трудах передовых патологов и клиницистов. Благодаря электронно-микроскопическому методу исследования стало известно, что в основе ранних, даже незначительных функциональных проявлений болезни лежат выраженные качественные и количественные ультраструктурные, нередко близкие к молекулярным, изменения архитектуры ядра, органелл цитоплазмы, а также цитоскелета [1]. В связи с этим при диагностике и лечении болезни возникает необходимость опоры не только на комплекс функциональных, иммунологических, биохимических нарушений и динамику патоморфологических изменений органов, но и на данные по состоянию субцитоплазматических и субъядерных структур клеток пораженного органа.

Первая и самая крупная органелла клетки – ядро, которую микроскопист Антони ван Левенгук увидел (1710) в эритроцитах лосося, амфибий и птиц, в течение 300 лет привлекает внимание морфологов, физиологов, биохимиков, биофизиков, молекулярных биологов, специалистов клеточной биологии и клинической медицины [2]. Являясь центром восприятия химических сигналов и управления жизнедеятельностью клетки, ядро и составляющие его субъядерные органеллы рано реагируют на действие медиаторов воспаления (ФНО, ИЛ-1), на клеточный стресс разной природы и интервенцию вирусов изменением топологии и структуры хроматина, активацией или подавлением экспрессии многих генов, а также модуляцией синтеза субъединиц рибосом и, следовательно, синтеза белка. Многочисленные исследования ядра клетки позволяют утверждать, что архитектура ядра тесно связана с многочисленными функциями и, следовательно, изменение его структуры может иметь прогностическую ценность при воздействии тех или иных патогенов на ткань печени [3].

При морфологическом изучении печеночной ткани при хронической HCV-инфекции постоянно возникает трудность в оценке жизнеспособности гепатоцитов и их органелл, при которой задействованы различные механизмы непрограммируемой и управляемой гибели клеток [4].

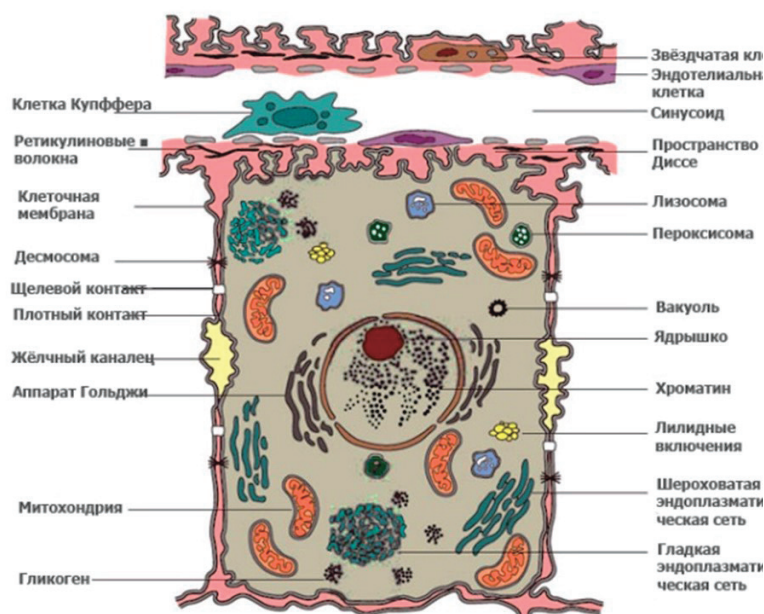
**Цель исследования** – представить имеющиеся в литературе сведения и результаты собственных исследований структурной архитектуры ядер гепатоцитов и их компонентов при хроническом гепатите С (ХГС).

## Материал и методы

Биоптаты печени получены путем проведения аспирационной биопсии печени у 18 пациентов с ХГС, от которых имелось письменное информированное согласие. Применялись методы визуализации: световая и электронная микроскопия, включая исследование полутонких срезов, разные методы фиксации и окраски.

## Результаты и обсуждение

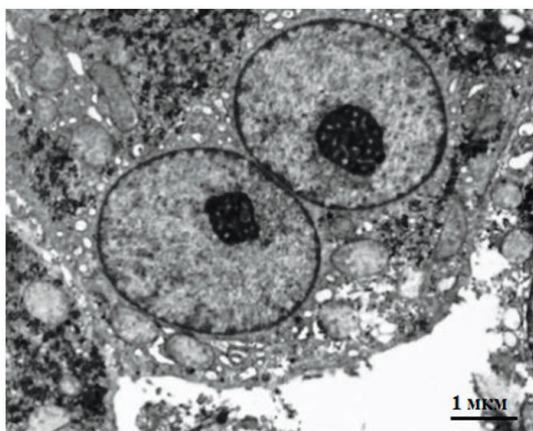
Гепатоцит в буквальном смысле является клеткой, «богатой» на разные органеллы и включения. Классический и наиболее важный представитель гепатоцита – его ядро (рис. 1).



**Рисунок 1.** – Гепатоцит (схема) и содержимое цитоплазмы [5]  
**Figure 1.** – Hepatocyte (diagram) and the content of the cytoplasm [5]

Ядро (*nucleus*, NS) размещено в центральной части гепатоцита, имеет диаметр от 7 до 16 мкм и с возрастом становится более крупным. В ядре сосредоточена основная масса ДНК – носителя наследственной информации и регулятора метаболической функции. В ядре происходят важнейшие матричные процессы – репликация ДНК, транскрипция (синтез РНК) и процессинг (созревание) РНК. Аккумулируя генетическую информацию, ядро передает ее в цитоплазму к месту синтеза белка – рибосомам – с помощью мРНК или информационной РНК. Ядро, взаимно обмениваясь информацией с цитоплазмой гепатоцита, управляет и координирует всю жизнедеятельность клетки: деление, рост, промежуточный метаболизм, синтез белка и ее дифференцировку [6, 7]. В течение жизненного цикла клетки оформленное ядро сохраняется в интерфазе. В период митоза в ядре из хроматина формируются хромосомы, совокупность которых носит название «митотическое ядро».

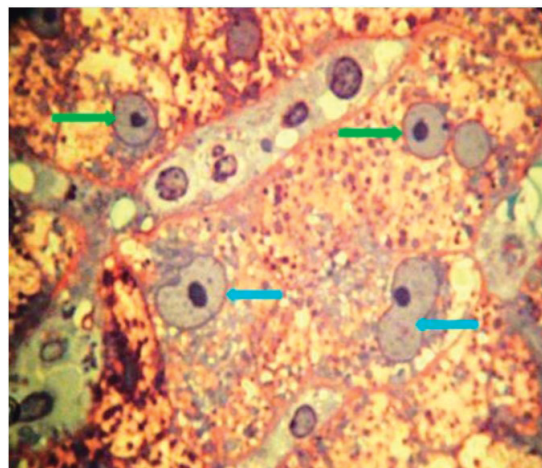
Значительный разброс размеров ядер гепатоцитов объясняется тем, что во время постнатального роста часть гепатоцитов претерпевает цитогенетические преобразования, характеризующиеся постепенной полиплоидизацией, во время которой появляются гепатоциты нескольких классов плоидности (рис. 2, 3).



**Рисунок 2.** – ХГС: полиплоидный гепатоцит, два ядра которого расположены на периферии цитоплазмы, претерпевшей парциальный некроз  
**Figure 2.** – HNC: a polyploid hepatocyte, two nuclei of which are located at the periphery of the cytoplasm that has undergone partial necrosis

**Полиплоидия**, или амплификация всего генома, относится к клеткам/организмам, содержащим более 2 основных наборов хромосом [8].

В клеточном составе печени основным является дифферон гепатоцитов, на долю которых приходится 60-70% клеток и 78% объема. Среди них около 25% гепатоцитов имеют два ядра, 70% одноядерных гепатоцитов тетраплоидны (4n), около 2% – октаплоидны (8n), т. е. с 4- или 8-кратным набором хромосом (рис. 4).



**Рисунок 3.** – ХГС: полиморфизм ядер в симпласте (зеленые стрелки – норма, голубые – атипичные). ×1000  
**Figure 3.** – HNC: polymorphism of nuclei in the symplast (green arrows - normal, blue - atypical). ×1000

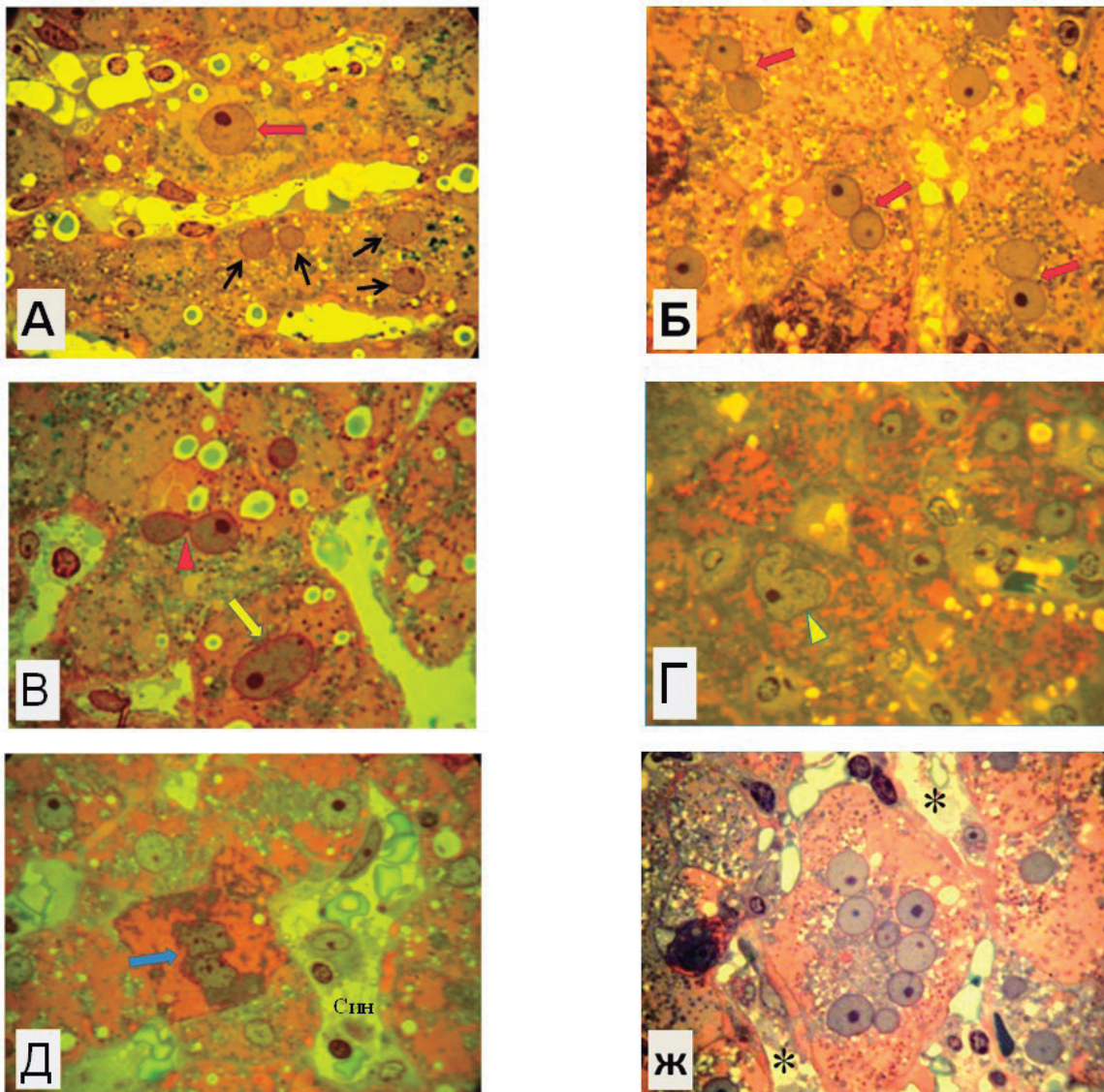
Полиплоидные гепатоциты появляются в раннем возрасте, их количество увеличивается, а после 50 лет полиплоидизация усиливается. У взрослых примерно 30-40% гепатоцитов – полиплоидные с 4-кратным набором хромосом. Увеличение плоидности ядра сопровождается увеличением размера гепатоцитов. Объем ядер гепатоцитов удваивается с удвоением содержания ДНК. Существенной разницы в объеме полиплоидных гепатоцитов, содержащих одно или два ядра, с одинаковыми наборами хромосом нет [9].

Для объяснения явления полиплоидии существует несколько гипотез. Одни из них предполагают, что плоидность печени необходима для улучшения функции гепатоцитов. Полиплоидия может позволить в два или четыре раза увеличить экспрессию некоторых генов и тем самым усилить определенные метаболические функции (рис. 5, 6).

Однако сравнение профилей экспрессии генов изолированных диплоидов, тетраплоидов и октаплоидов с помощью анализа микрочипов показало, что только 50 генов-кандидатов из широкого спектра разных биологических процессов были экспрессированы по-разному [10].

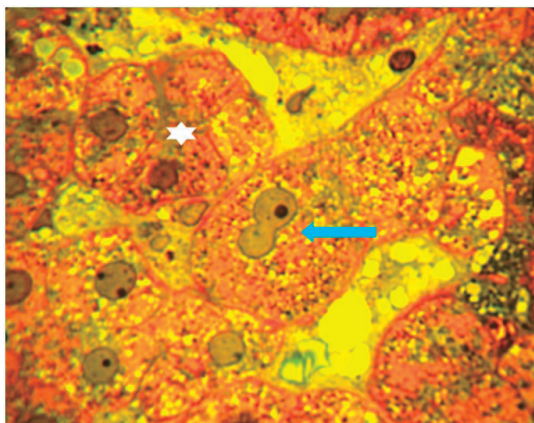
Полиплоидно-активированные гены присутствуют во всех основных печеночно-специфических функциях, включая азотистый обмен, синтез белка, поддержание окислительно-восстановительного состояния, метаболизм ксенобиотиков и иммунитет. Установлена склонность полиплоидных гепатоцитов к увеличению производства анаэробной энергии за счет получения АТФ из углеводов, а не из жирных кислот, предполагая, что полиплоидия связана с переключением специфических для печени функций в режим экономии, вместо вкладывания их в точное деление.



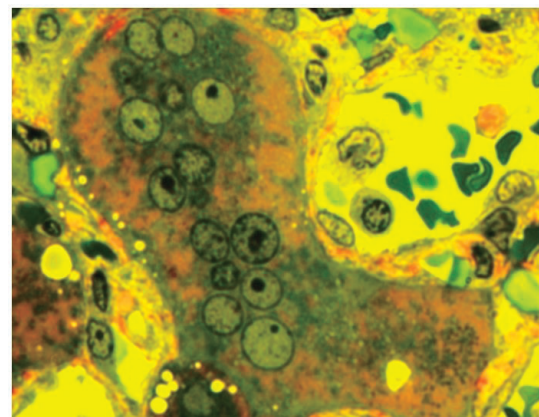


А. Мононуклеарный гепатоцит (красная стрелка) с полиплоидным ядром. Диплоидные ядра обозначены черными стрелками. Б. Кластер двуядерных гепатоцитов (стрелки). В. Асимметрично делящееся перешнуровкой ядро гепатоцита (наконечник стрелки); полиплоидное ядро соседнего гепатоцита – желтая стрелка. Г. Полиплоидное ядро (наконечник стрелки) причудливой формы. Д. Гепатоцит с фусцинофильной цитоплазмой и четко обозначенными угловатыми границами с ядерными фрагментами неправильной формы. Ж. Многоядерный гепатоцит (симпласт); окружающие его синусоиды отмечены звездочками

**Рисунок 4. – Варианты ядерного аппарата гепатоцитов при ХГС. Окраска: азур I-основной фуксин. ×1000**  
**Figure 4. – Variants of the nuclear apparatus of hepatocytes in CHC. Coloring: azure I-basic fuchsin. ×1000**

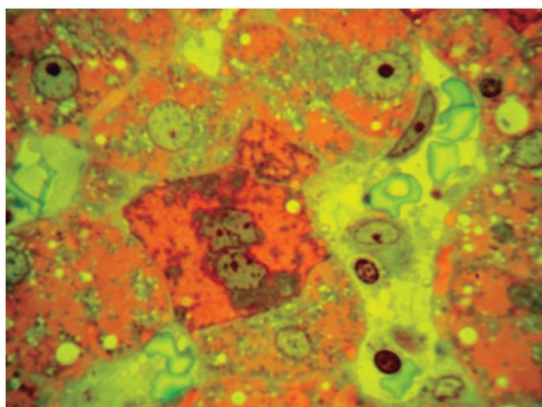


**Рисунок 5. – Розетка из гепатоцитов (звездочка), асимметрично делящееся полиплоидное ядро гепатоцита (стрелка). ×1000**  
**Figure 5. – Rosette of hepatocytes (asterisk), asymmetrically dividing polyploid nucleus of the hepatocyte (arrow). ×1000**

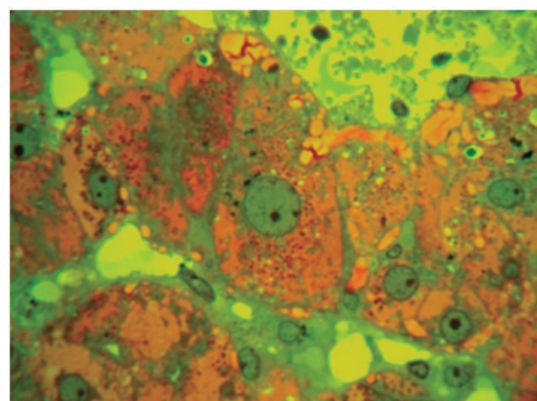


**Рисунок 6. – Многоядерный гепатоцит. ×1000**  
**Figure 6. – Multinucleated hepatocyte. ×1000**





**Рисунок 7.** – Деформация ядер.  $\times 1000$   
**Figure 7.** – Deformation of the nuclei.  $\times 1000$



**Рисунок 8.** – Полиплоидное ядро.  $\times 1000$   
**Figure 8.** – Polyploid core.  $\times 1000$

Согласно другим гипотезам, полиплоидия обеспечивает защиту гепатоцитов от окислительного стресса и генотоксического повреждения. Полиплоидные наборы хромосом могут служить буфером против мутаций, инактивирующих гены агентами, повреждающими ДНК. Например, ранние опухолевые поражения в печени характеризуются увеличением диплоидных клеток, которые менее защищены от мутаций, чем полиплоидные клетки печени. Примечательно, что сравнение диплоидных и полиплоидных гепатоцитов в масштабе генома показывает, что полиплоидия индуцирует гены, направленные против патогенов, повреждений ДНК и окислительного стресса, и ингибирует гены, способствующие апоптозу (рис. 7, 8).

Кроме того, прогрессирующая полиплоидизация позволяет печени адаптироваться к потере клеток во время процесса старения, или может быть защитным ответом на накопление поврежденной ДНК. При патологических состояниях, сопровождающихся потерей функции печени, печень способна компенсировать потерю ее массы путем увеличения количества геномов.

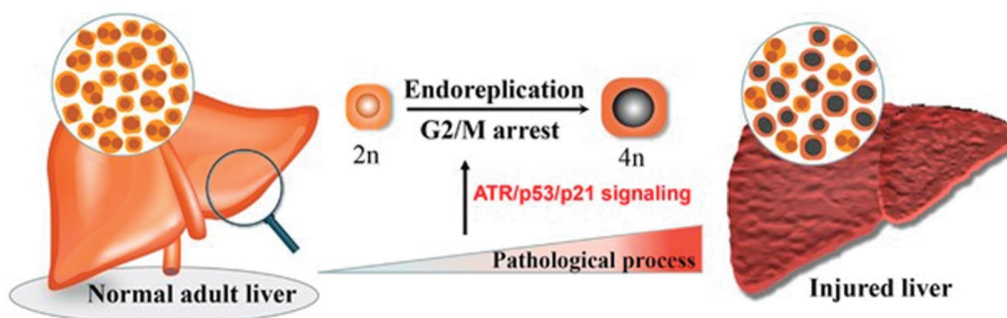
В патологических условиях полиплоидизация печени в основном указывает на серьезность повреждения: чем выше наблюдаемая скорость

полиплоидизации, тем более существенной была травма (рис. 9).

«Конвейер плоидности», характерный для печени, развивается, чтобы генерировать генетическое разнообразие и позволяет адаптироваться гепатоцитам к ксенобиотическим (чужеродным) и пищевым повреждениям. Однако увеличение диплоидных клеток – характерная особенность гепатоцеллюлярной карциномы из-за их повышенной пролиферативной способности и восприимчивости к дальнейшим мутациям [8-10].

Представленная в литературных источниках информация о полиплоидии содержит ряд заключений, касающихся ее значения при ряде неинфекционных и вирусных поражений печени, в частности:

- гепатоциты человека обладают способностью полиплоидизироваться (в результате слияния, нарушения цитокинеза и эндоредупликации);
- полиплоидизации способствует капсид HCV (структурный белок Core), выполняющий регуляторные функции в таких процессах, как рост клеток, апоптоз, стеатоз, врожденный иммунный ответ, участие в сигнальной трансдукции и (в том числе) трансформации гепатоцитов и холангиоцитов;



**Рисунок 9.** – Патологическая полиплоидизация печени (в патологической печени гепатоциты продвигаются через G1 и входят в S-фазу, но терпят неудачу в митозе клеток, что приводит к образованию мононуклеарных полиплоидных гепатоцитов; остановка G2/M контролируется сигнальным путем p53/p21 [10]  
**Figure 9.** – Pathological liver polyploidization (in a pathological liver, hepatocytes move through G1 and enter S-phase, but fail in cell mitosis, which leads to the formation of mononuclear polyploid hepatocytes; G2/M arrest is controlled by the p53/p21 signaling pathway [10])

– полиплоидные гепатоциты способны подвергаться многополярному делению и анеуплоидизировать, в результате чего появляются клетки с некратно измененным (увеличенным/уменьшенным) числом хромосом; они служат резервуаром генетического разнообразия и материалом для сохранения наиболее адаптированных к травме и инфекциям клеток; полиплоидия способствует нечувствительности клетки к повреждению молекул ДНК; частота анеуплоидных гепатоцитов взрослого человека ~ 5%;

– в полиплоидных гепатоцитах снижен уровень окислительного фосфорилирования в митохондриях и преобладает гликолитический метаболизм, ограничена выработка АФК, снижен липогенез; хроническое повреждение печени может привести к избирательной экспансии устойчивых к повреждению анеуплоидных гепатоцитов с благоприятным кариотипом;

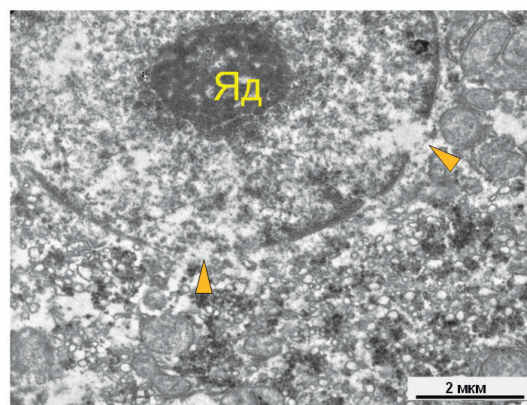
– полиплоидия способствует увеличению метаболической продуктивности, а также является одним из механизмов, лежащих в основе адаптаций гепатоцитов к внешним воздействиям и повреждениям; может способствовать адаптации к хроническим заболеваниям печени;

– внеплановая полиплоидизация (HCV-инфекция) способна вызвать нестабильность генома и привести к неопластической анеуплоидии; полиплоидия – признак многих раковых заболеваний человека и может predispose к нестабильности генома и образованию анеуплоидизации, которые играют основную роль в канцерогенезе.

Известно, что вирусы используют множество белков-хозяев в течение своего жизненного цикла, включающего сплайсинг и экспорт вирусной РНК. Показано, что как SRSFs, так и hnRNP белки контролируют сплайсинг РНК ВИЧ и других вирусов, тем самым значительно влияя на трансляцию вирусных белков [11, 12, 13]. Этим было доказано, что вирусная инфекция вызывает изменения на клеточном уровне и локализацию факторов сплайсинга, например, их исключение из NSs [14, 15]. Белки, участвующие в формировании 3'-конца мРНК хозяина, участвуют также в вирусном репродуктивном цикле [16]. Установлено, что даже вирусы, которые реплицируются в цитоплазме, могут влиять на функцию ядер [17].

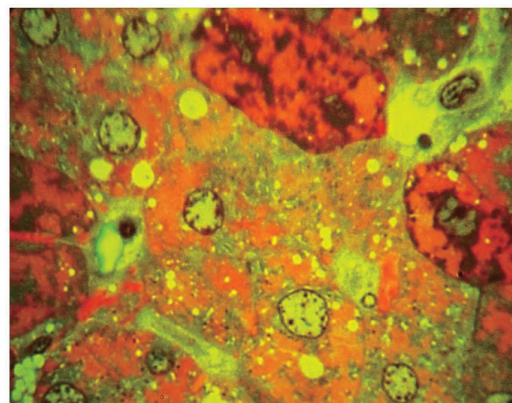
**Ядра гепатоцитов при ХГС.** Поражение ядер гепатоцитов при HCV-инфекции – характерный признак и включает отек, измененную форму, гиперхромазию, нарушенную структуру ядерного хроматина, увеличенные и множественные ядрышки и поражения ядерной оболочки (рис. 10, 11).

При электронной микроскопии в ядрах гепатоцитов выявлялись комплексы канальцев или ветвящихся фибрилл диаметром 20-30 нм. Авторы обнаруживали белки HCV в цитоплазме, хотя



**Рисунок 10.** – Разрушение ядерной оболочки ядра (стрелки); Яд – ядрышко

**Figure 10.** – Destruction of the nuclear shell of the nucleus (arrows); Яд – nucleolus



**Рисунок 11.** – Признаки хроматолиза ядра: в центре гепатоцит со светлой цитоплазмой (отсутствие гликогена) и «пустыми» ядрами. ×1000

**Figure 11.** – Signs of nuclear chromatinolysis: in the center hepatocytes with light cytoplasm (lack of glycogen) and "empty" nuclei. ×1000

в некоторых сообщениях указывалась ядерная локализация белка С. Подтверждая морфологические повреждения при ХГС, большинство коллег считают, что результаты исследований с использованием методов молекулярной биологии должны быть продолжены на ультраструктурном уровне [18].

В нашей клинике разработан и внедрен в практику оригинальный метод диагностики активности и прогноза течения ХГС, в основе которого были результаты отсутствия корреляции между клинико-лабораторными и морфологическими показателями, характеризующими активность и стадию хронизации, полиморфизм гепатоцитов и их ядер [19].

Проведено исследование индексов гистологической активности, стадии хронизации (ГИСА, ГИСХ) и кариометрия (площадь и светооптическая плотность ядер гепатоцитов) на светооптическом уровне в биоптатах пациентов с ХГС. Площадь и оптическая плотность гепатоцитов были разделены на 4 диапазона (А, В, С, D) для каждого из параметров. В норме система ядер гепатоцитов имела следующие характеристики площади и оптической плотности: низкие значения параметров (А) – 8,8 и 5,4%, соответственно;



нормальные (В) – 71,5 и 79,3%; умеренно увеличенные (С) – 18,5 и 12,0%; высокие (D) – 1,2 и 3,3%.

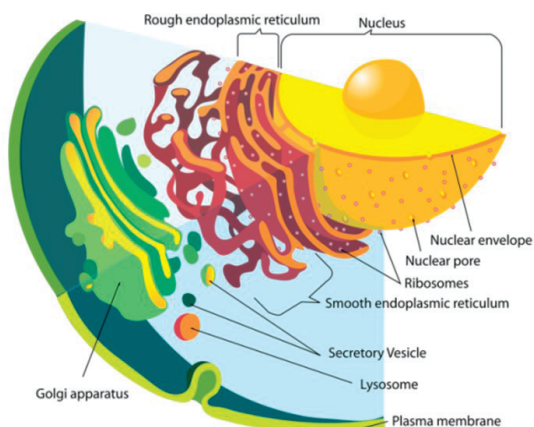
Установлено, что у части пациентов с низкой гистологической активностью имеется избыточное количество ядер малой плотности с пониженной функциональной активностью, что было неблагоприятным признаком предстоящей активации воспалительного процесса в печени.

У большинства пациентов по показателям оптической плотности выявлено изменение соотношения в сторону снижения клеток диапазона В (норма), увеличение просветленных ядер диапазона С и даже появление клеток диапазона D, что является признаком прогрессирования болезни. Важно отметить, что у этих же пациентов на момент биопсии показатели АлАТ, АсАТ, билирубина, ЩФ, ГГТП, общего белка, альбумина и гамма-глобулинов приближались или соответствовали норме [20].

Таким образом, кариометрические исследования позволили дополнить методы оценки активности и прогноза течения ХГС.

Независимо от формы и размера интерфазного ядра в нем выделяют оболочку и внутреннюю часть ядра – нуклеоплазму, представляющую собой гелеобразный матрикс, в котором располагаются хроматин, ядерные тельца, ионы, белки, нуклеотиды, НАД<sup>+</sup> и многие другие молекулы.

Ядерная оболочка полностью охватывает ядро и отделяет генетический материал клетки от окружающей цитоплазмы, являясь барьером для свободного перемещения макромолекул между нуклеоплазмой и цитоплазмой. Она состоит из внутренней и наружной ядерных мембран, перинуклеарного пространства между ними, поровых комплексов и фиброзного слоя, или ламины (рис. 12, 13).



**Рисунок 12.** – Ядерная оболочка и содержимое (матрикс) нуклеоплазмы [21]

**Figure 12.** – Nuclear envelope and contents (matrix) of nucleoplasm [21]

Ядерные мембраны обычно расположены параллельно друг от друга на расстоянии от 10 до 50 нм. Ширина перинуклеарного пространства

зависит от типа и физиологического состояния (метаболической активности) клетки, значительно увеличиваясь под влиянием неблагоприятных факторов.

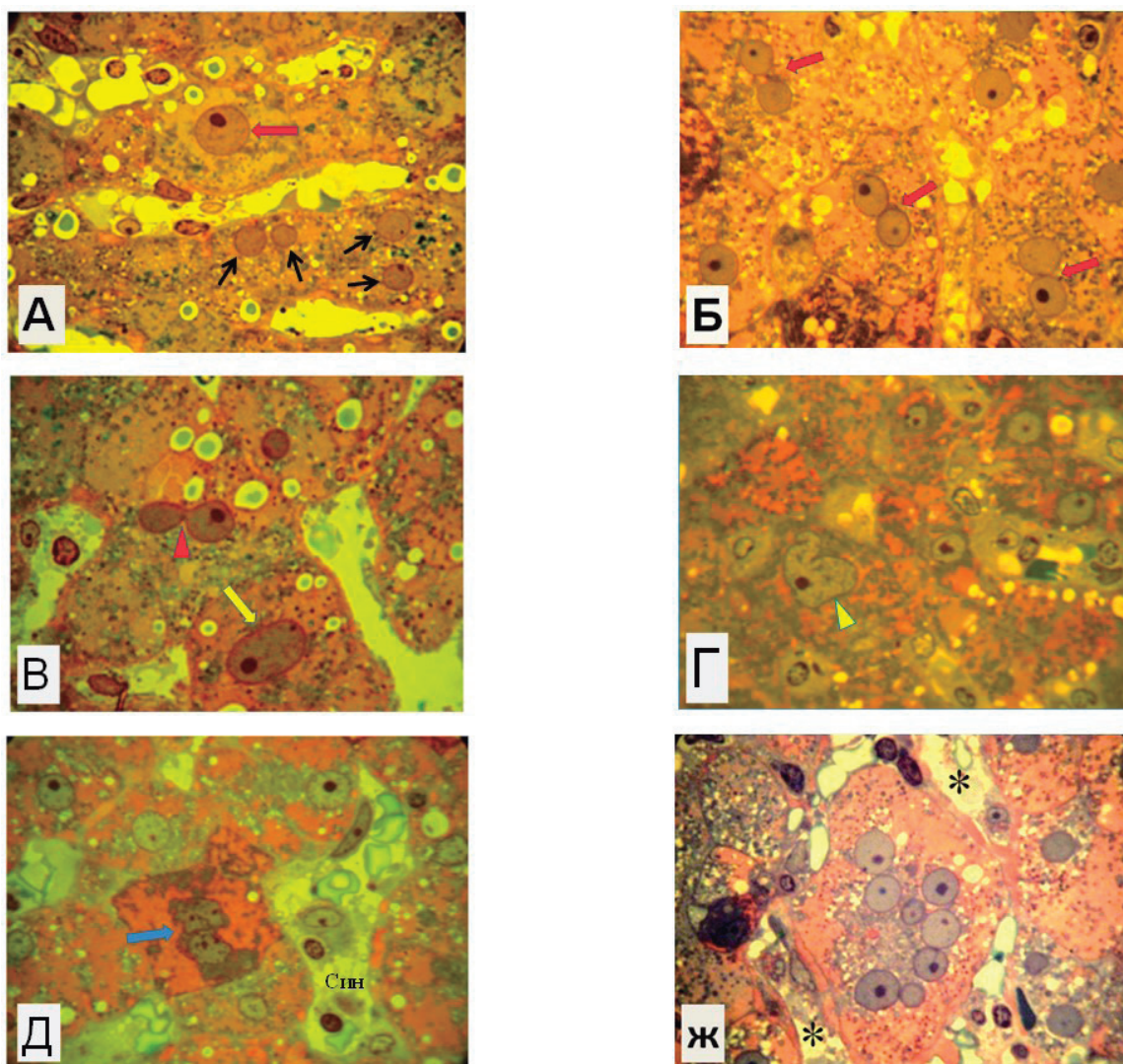
Наружная мембрана переходит в некоторых участках в мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума и таким образом перинуклеарное пространство и цистерны эндоплазматической сети образуют единую систему (рис. 13А).

К внутренней ядерной мембране со стороны нуклеоплазмы плотно примыкает сетчатая протеиновая оболочка, или ядерная пластинка (ламина), которая ассоциирована с хроматином и другими ядерными компонентами (рис. 13Б). Пластинка состоит из нитчатых белков ламин (А, В, С) и многих других белков.

Ядерная пластинка – важный компонент ядра, поскольку не только обеспечивает механическую стабильность в качестве скелета, но и участвует в большинстве ядерных активностей, включая репликацию и репарацию ДНК, транскрипцию РНК, организацию хроматина, и во многих других процессах. Известно, что концевые и центромерные участки хромосом закреплены на белках ядерной ламины (рис. 14).

Как видно на рисунке 14, ядерная оболочка состоит из внешней (ONM) и внутренней ядерной мембраны (INM), которые слиты в комплексах ядерных пор (NPC). ONM является продолжением эндоплазматического ретикулума (ER) и связан с рибосомами, а также с неспринами и другими белками, связывающими ядро с цитоскелетом. Ядерная пластинка представляет собой белковую сеть промежуточных филаментов под INM, которая образует обширные контакты с хроматином и белками INM. INM содержит множественные трансмембранные (NET) белки ядерной оболочки, из которых на рисунке 13 изображены лишь некоторые. Белки LEM-домена взаимодействуют с хроматин-связывающим белком BAF и факторами транскрипции, такими как SMAD, β-катенин и другими, тогда как рецептор ламина В (LBR) связывается с гетерохроматиновым белком 1 (HP1) и непосредственно с модифицированными гистонами.

Специфические мутации в генах белков ядерной пластинки вызывают широкий спектр (около 18) наследственных заболеваний человека, которые в совокупности называются ламинопатиями [23]. Эта группа заболеваний включает мышечную дистрофию Эмери-Дрейфуса, дилатационную кардиомиопатию с дефектами проводимости, семейную частичную липодистрофию (Даннигана), синдром Хатчинсона-Гилфорда и другие болезни. Ламинопатии и другие сведения указывают на важную роль пластинки в организации генетического содержимого, в передаче механических и химических сигналов от плазмолеммы и цитоплазмы к хроматину и, следова-



**Рисунок 13.** – Ультраструктурная организация ядра гепатоцита  
**Figure 13.** – Ultrastructural organization of the hepatocyte nucleus

А. Локальные участки расширенного перинуклеарного пространства (наконечники стрелок), в которых наружная ядерная мембрана с прикрепленными рибосомами, является частью гранулярной эндоплазматической сети. Б. Фрагмент ядерной оболочки гепатоцита. Ядерная пластинка (наконечники стрелок), прилежащая к поверхности внутренней ядерной мембраны со стороны нуклеоплазмы. В. Ядерные поры гепатоцита (указаны стрелками). Г. Перихроматин ядра гепатоцита (наконечники стрелок), прилегающий к ламине ядерной оболочки. Околяядрышковый хроматин обозначен стрелкой, эухроматин – звездочкой. Д. Перихроматиновые гранулы, окруженные светлым «галом» в ядре гепатоцита (указаны стрелками). От гало нижней перихроматиновой гранулы отходит светлый каналец в сторону внутренней ядерной мембраны, примыкающей к расширенному перинуклеарному пространству. Ж. Кластер интерхроматиновых гранул (квадратная рамка). В правом верхнем углу та же структура в рамке при большем увеличении. Ядрышко указано стрелкой

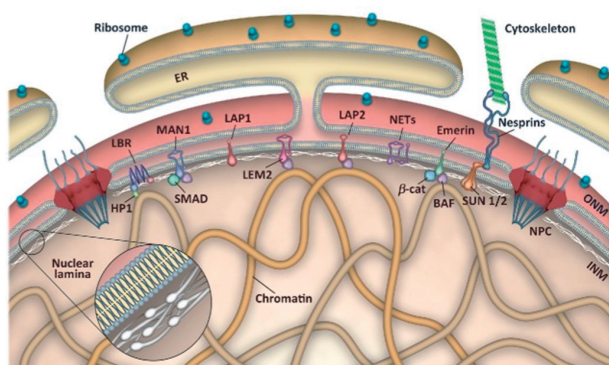
тельно, в регуляции активности генов, а также в механическом соединении цитоплазматического цитоскелета с ядром [24]. Установлено, что ламины играют роль в нескольких клеточных процессах, включая деление клеток, дифференцировку, миграцию, старение и апоптоз.

Показано, что белки HCV изменяют морфологию и жесткость (биомеханику) ядер путем подавления (разрушения) белков A/C ламины. В гепатоцитах, пораженных вирусом, ядра принимают овальную или неправильную форму (рис. 13Д, 13Ж). Известно, что белок HCV NS3, который обнаруживают в цитоплазме и ядре, обладает активностью хеликазы и сериновой протеазы.

В ядерную оболочку делящихся клеток человека встроены ядерные поры, или ядерные по-

ровые комплексы, в количестве около 3-5 тысяч (рис. 13В, 14). Каждая пора образована сложным белковым комплексом, (более 450 копий молекул из 34 разных белков-нуклеопоринов), регулирующим пассивный (диффузия) и активный (с использованием энергии) транспорт веществ через ядерные мембраны. Ядерная пора не имеет постоянной формы, изменяет свое строение в зависимости от класса переносимых через нее белками-переносчиками макромолекул (рис. 13В). Число поровых комплексов непостоянно и зависит от стадии жизненного цикла и функционального состояния клетки. Увеличение числа ядерных пор происходит при подготовке клетки к делению за счет образования de novo. Плотность расположения пор в ядерной оболоч-





**Рисунок 14.** – Схематическое изображение ядерной оболочки [22]

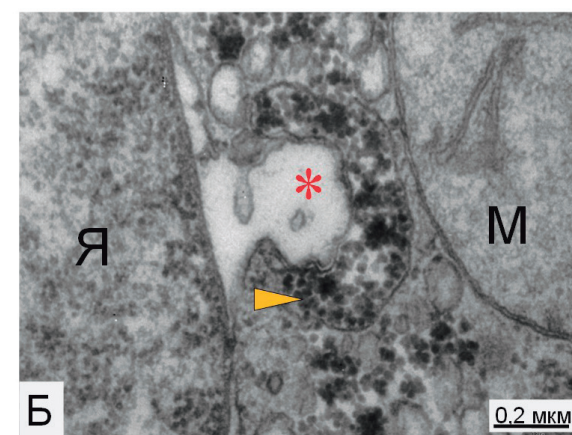
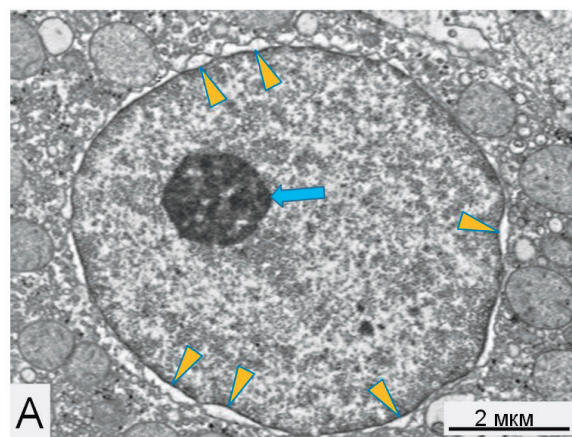
**Figure 14.** – Schematic representation of the nuclear envelope [22]

ке может варьировать от 13 до 30 на  $\mu\text{m}^2$  поверхности ядра [25].

В составе порового комплекса имеются два поровых кольца – цитоплазматическое и ядерное, берущие начало, соответственно, от наружного и внутреннего листов ядерной оболочки [22]. От белковых гранул поровых колец к центру поры отходят множественные тонкие фибриллы, сходящиеся к центральной грануле и формирующие диафрагму. Ядерные поры участвуют в избирательном транспорте веществ между ядром и цитоплазмой: все ядерные белки поступают в ядро из цитозоля, а все типы РНК транспортируются в обратном направлении (из ядра в цитозоль). В этом процессе комплекс поры выступает как молекулярный механизм, исполняющий не только роль переносчика, но и сортировщика молекул, подлежащих транспорту. Через поры в ядро свободно поступают ионы, сахара, нуклеотиды, АТФ, некоторые гормоны. Белки, транспортируемые в ядро, имеют определенные последовательности аминокислот – последовательности ядерной локализации. Рецепторы ядерных пор узнают и пропускают эти молекулы в ядро [26].

Наружная ядерная мембрана способна образовывать выпячивания в цитоплазму и формировать пузырьки, способные отрываться от мембраны и переходить в цитоплазму. Предполагается, что явление «блеббинга» может служить одним из видов переноса веществ из ядра в цитоплазму (рис. 15) [27]. Особенно интенсивный процесс пузыреобразования, с вовлечением обеих мембран, наблюдается при некоторых формах гибели клетки.

**Хромосомы ядра** в период интерфазы представлены хроматином – многокомпонентной структурой, основу которой составляет комплекс ДНК с РНК, гистонами и многочисленными негистоновыми белками. Во время деления клетки весь хроматин переходит в конденсированное состояние (транспортную форму наследственного материала) в составе диплоидного или по-



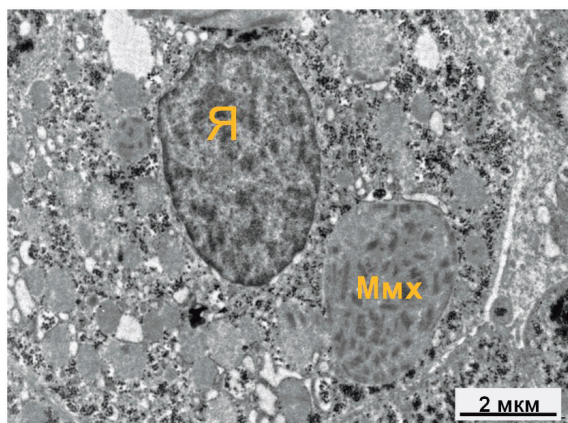
**Рисунок 15.** – А. Отслоение (наконечники стрелок) наружной ядерной мембраны на большом протяжении в ядре гепатоцита, в котором находится компактное ядрышко (стрелка). Б. Ядерный блеббинг (звездочка) – свидетельство нарушенного взаимодействия отдельных хромосом с ядерной оболочкой в области разрушенной ламины; характерен для клеток в предапоптотном состоянии; Я – фрагмент ядра, М – фрагмент митохондрии, кластеры гранул гликогена – наконечник стрелки  
**Figure 15.** – A. Detachment (arrowheads) of the outer nuclear membrane over a large extent in the nucleus of the hepatocyte, which contains the compact nucleolus (arrow). Б. Nuclear blebbing (asterisk) - evidence of impaired interaction of individual chromosomes with the nuclear envelope in the area of the destroyed lamina; typical for cells in a pre-apoptotic state; Я - a fragment of the nucleus, М - a fragment of mitochondria, clusters of glycogen granules - an arrowhead

липлоидного набора хромосом. Интерфазный хроматин морфологически неоднороден: его большая часть присутствует в виде гетерохроматина – плотно упакованной ДНК, ассоциированной с РНК, гистонами и многочисленными негистоновыми белками [28]. Эта конденсированная форма хроматина содержит ДНК, которая редко транскрибируется. По локализации различают несколько видов гетерохроматина: гетерохроматин, контактирующий с ламинной (перихроматин) и примыкающий к ядрышку (перинуклеарный). Отдельные зерна и глыбки гетерохроматина могут находиться в других участках нуклеоплазмы (рис. 13Г). Деконденсированный, невидимый в световой микроскоп хроматин, в котором активно осуществляется транскрипция, носит название эухроматина. Он находится внутри ядра и ядерных пор. ДНК эухроматина содержит гены,

которые работают постоянно (гены «домашнего хозяйства»), а также часто экспрессируемые гены.

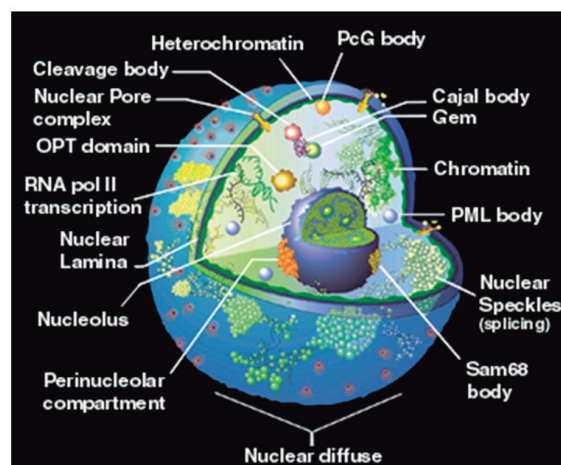
Компактизация ДНК в ядре важна по двум причинам: 1 – позволяет упорядоченно расположить длинные («сантиметровые») молекулы ДНК в небольшом объеме ядра, 2 – один из способов функционального контроля генов: характер упаковки ДНК влияет на активность некоторых участков генома [21, 29]. По соотношению эу- и гетерохроматина в ядре можно судить о степени функциональной активности клетки.

Таким образом, в ядре можно наблюдать более и менее конденсированные участки хроматина, причем степень конденсации этих участков и их расположение меняются в зависимости от воздействия на клетку многих факторов, в том числе вирусных патогенов (рис. 16).



**Рисунок 16.** – Гепатоцит, демонстрирующий в ядре (Я) большое количество гетерохроматина. Рядом расположена мегамитохондрия (Ммх) с кристами, характерными для процессов окислительного стресса  
*Figure 16.* – A hepatocyte showing a large amount of heterochromatin in the nucleus (Я). Nearby there is a megamitochondrion (Ммх) with cristae characteristic of oxidative stress processes

В интерфазном ядре индивидуальные хромосомы в форме хроматина занимают обособленные неперекрывающиеся области, получившие название хромосомных территорий. Свободные от хроматина полости (каналы и более широкие лакуны), расположенные между хромосомными территориями (ХТ), представляют интерхроматиновое пространство, или интерхроматиновый домен, которые начинаются от ядерных пор и распространяются на периферию ХТ. В интерхроматиновом пространстве может присутствовать около десяти (в зависимости от типа клеток), неограниченных мембранами субъядерных структур (функциональных компартов, телец), которые участвуют в транскрипции, процессинге (созревании) РНК, репликации и репарации ДНК. К ним относят ядрышко, тельца Кахаля, гистоновые локусы (HLBs), ядерные спеклы, ядерные стрессовые тела (nSBs), параспеклы, перинуклеолярный компармент (PNC)



**Рисунок 17.** – Схема расположения ядерных телец [32]  
*Figure 17.* – The layout of nuclear bodies [32]

и другие. Ядерные тельца определяются обогащением специфических маркерных белков и молекул РНК [30]. Среди них есть такие, которые формируются в ответ на изменение физиологических условий в клетке или при различных патологических состояниях. Иммунофлуоресцентные изображения этих ядерных тел представлены в базе данных Nuclear Protein (рис. 17) [31].

Для морфолога при рассмотрении вопросов интенсивности экспрессии генов и синтеза белка более интересны субъядерные структуры, представленные перихроматиновыми фибриллами, перихроматиновыми и интерхроматиновыми гранулами, а также ядрышко.

**Перихроматиновые фибриллы (ПФ)** представляют собой морфологическое выражение нуклеопротеидных комплексов, компонентом которых являются растущие цепи пре-мРНК (рис. 13Г). Белковым компонентом ПФ являются РНК-полимераза II, транскрипционные факторы и многие другие факторы процессинга РНК, которые располагаются преимущественно по периферии конденсированного хроматина. Их плотность связана с транскрипционной активностью соответствующих участков хроматина, имеет прямую зависимость – чем выше интенсивность транскрипции, тем выше плотность перихроматиновых фибрилл. Отдельные ПФ диаметром около 5 нм визуализировать затруднительно; чаще всего выявляются пучки ПФ диаметром около 20 нм. Таким образом, ПФ – маркер транскрипционной активности клетки при разных ее состояниях (условиях функционирования) [33].

Интерхроматиновые гранулы или кластеры (ИГ, *interchromatin granule clusters, IGCs*). Непрямая иммунофлуоресцентная микроскопия с использованием моноклональных антител к мРНК комплексам (факторам сплайсинга) выявила характерное окрашивание ядер в виде интенсивно флуоресцирующих пятен, названных ядерными спеклами (англ. speckle – пятнышко,



крапинка) [6]. При электронно-микроскопическом исследовании большинство спеклов соответствуют скоплениям гранул интерхроматина – частиц диаметром от 20 до 25 нм (рис. 13Ж). В большинстве случаев они собраны в более или менее выраженные скопления (кластеры).

В составе кластеров ИГ связаны между собой сеть тонких фибрилл и при исследовании под электронным микроскопом часто выглядят как скопления «бусин на нитках». Размеры кластеров ИГ варьируют от 0,8 до 1,8 мкм и реже – до нескольких мкм в диаметре, при этом они часто характеризуются неправильной формой и весьма неровным очертанием контуров. Протеомный анализ изолированных ИГ показывает, что они содержат приблизительно 240 стабильно ассоциированных белков, большинство из которых связаны с разными аспектами процессинга (созревания) пре-мРНК. ИГ могут быть сайтами для сборки, модификации или хранения белковых комплексов, вовлеченных в процессинг пре-мРНК. В интерфазных соматических клетках млекопитающих в среднем выявляется от 20 до 50 кластеров ИГ на одно ядро. Ранее считалось, что ядерные спеклы являются сайтами для хранения и модификации факторов сплайсинга, теперь они признаны ядерными компартментами, способствующими комплексной регуляции экспрессии генов [6].

Таким образом, спеклы – субъядерные структуры, обогащенные факторами сплайсинга РНК и расположенными в межхроматиновых областях нуклеоплазмы. Эти структуры чрезвычайно чувствительны к изменениям транскрипционного статуса клетки, к разным сигналам, оказывающим влияние на доступность пула факторов транскрипции и процессинга РНК. Их размер или неправильная форма динамически изменяется и зависит от множества факторов, включая клеточные уровни АТФ, скорость фосфорилирования различных белков, транскрипцию генов, активируемых стрессом, ремоделирование хроматина SWI/SNF и транскрипцию РНК-полимеразы II [34]. Ингибирование транскрипции или сплайсинга РНК-полимеразы II приводит к накоплению белков в увеличенных ядрах, нормальный размер которых может быть восстановлен после устранения блока [35].

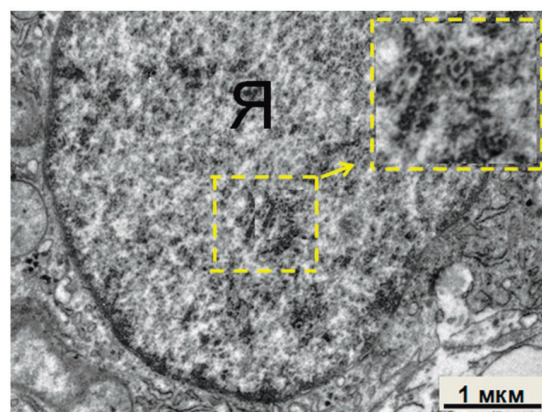
При снижении транскрипционной активности ядра происходит увеличение размеров кластеров ИГ, приобретающих правильную округлую форму. Многие исследователи аргументированно полагают, что кластеры ИГ являются не просто инертными хранилищами факторов сплайсинга, но могут оказывать регулирующее и координирующее влияние на регуляцию экспрессии генов, в том числе расположенных на разных хромосомах. Согласно современным представлениям, ядерные спеклы являются крупнейшими центра-

ми регуляции всех этапов экспрессии ядерных генов.

Ингибирование процессинга РНК вызывает накопление компонентов сплайсинга в огромных концентрациях межхроматиновых гранулярных кластеров. При флуоресцентной микроскопии они выглядят как неправильные, точечные структуры, различающиеся по размеру и форме.

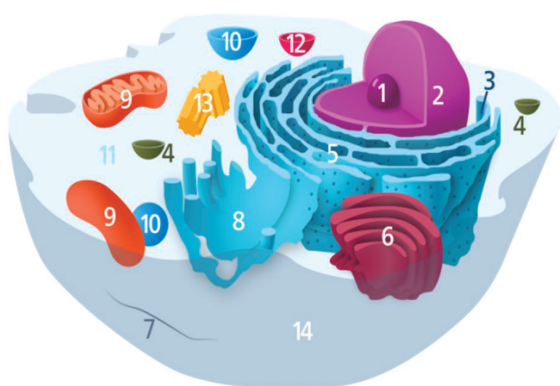
*Перихроматиновые гранулы* (ПГ, *perichromatin granules, PGs*) – это электронно-плотные структуры, часто окруженные электронно-прозрачным «галом», размером (вместе с гало) около 70 нм (рис. 13Д). Количество ПГ в соматических клетках млекопитающих в среднем составляет 500-2000 на ядро, но может значительно варьировать в зависимости от физиологического состояния клетки. ПГ наиболее часто обнаруживаются на периферии конденсированного хроматина. Функции этой ядерной структуры полностью не установлены. Многие авторы считают, что ПГ участвуют во временном хранении гетерогенной (незрелой) ядерной РНК (яРНК) и транспорте матричной (мРНК). Значительные количества ПГ обнаруживаются в ядрах клеток, малоактивных в отношении синтеза РНК или белков, например при переходе клетки в состояние апоптоза. Установлено, что их количество возрастает при снижении транскрипции, осуществляемой полимеразой II. Под действием некоторых гормонов (ТТГ, АКТГ, и др.) количество ПГ резко снижается в течение короткого периода времени; это явление послужило поводом считать, что РНК перед выходом из ядра хранится в ПГ [36].

В ядрах клеток ПГ чаще всего обнаруживаются поодиночке, но иногда могут формировать кластеры, в которых ПГ образуют палочковидные структуры (рис. 18), или группы (скопления), по внешнему виду похожие на пчелиные соты.

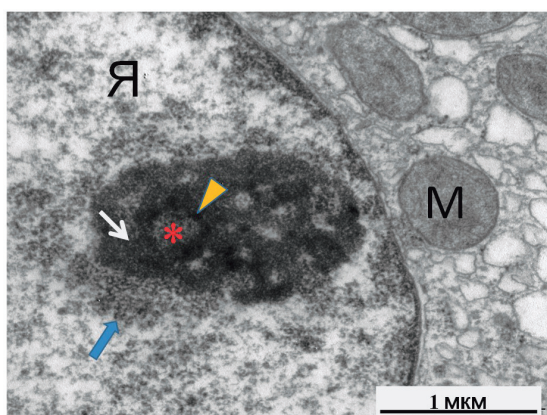


**Рисунок 18.** – Кластеризация перихроматиновых гранул в ядре гепатоцита (в рамке). В правом верхнем углу та же структура при большем увеличении  
**Figure 18.** – Clustering of perichromatin granules in the hepatocyte nucleus (in the box). In the upper right corner, the same structure at higher magnification





**Рисунок 19.** – Расположение ядрышка (1) внутри ядра (2) и окружающие структуры клетки (3-14) [37]  
**Figure 18.** – The location of the nucleolus (1) inside the nucleus (2) and the surrounding structures of the cell (3-14) [37]

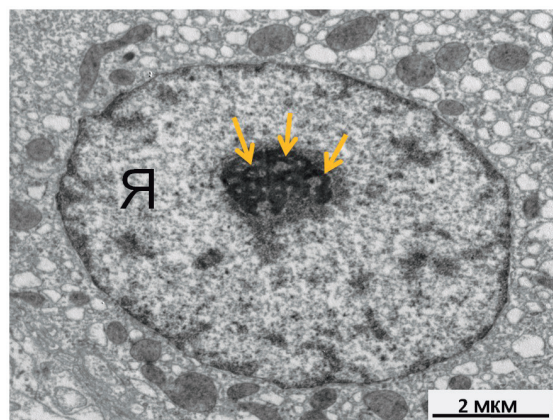


**Рисунок 20.** – Фрагмент ядра (Я) гепатоцита: фибриллярный центр (ФЦ) – звездочка; плотный фибриллярный компонент (ФК) – наконечник стрелки; гранулярный компонент (ГК) – белая стрелка; околядрышковый гетерохроматин – синяя стрелка; М – митохондрия  
**Figure 20.** – Fragment of the nucleus (Я) of the hepatocyte: fibrillar center – asterisk; dense fibrillar component – arrowhead; granular component – white arrow; perinucleolar heterochromatin – blue arrow; M – mitochondria

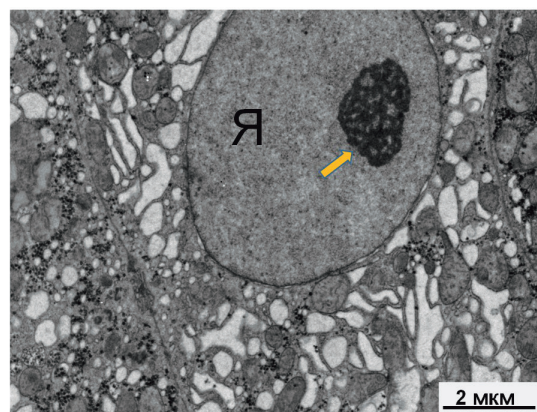
**Ядрышко.** Среди разных субъядерных структур ядра самым большим (крупным) и наиболее известным телом является ядрышко – центр («фабрика») образования субъединиц рибосом (рис. 19, 20).

В период 1980-2000 гг. структурно-функциональная организация ядрышка была расшифрована методами автордиографии и электронной микроскопии [37]. Ядрышки не окружены мембраной и формируются вокруг кластеров tandemно повторенных рибосомных генов (рДНК), кодирующих рРНК, которые транскрибируются РНК-полимеразой I в виде предшественника пре-рРНК. Кластеры рибосомных генов занимают определенные районы на коротких плечах 13-15, 21, и 22-й акроцентрических хромосом кариотипа человека. Участки хромосом, занимаемые рибосомными генами, называют «ядрышкообразующими районами», или «ядрышковыми организаторами» [38].

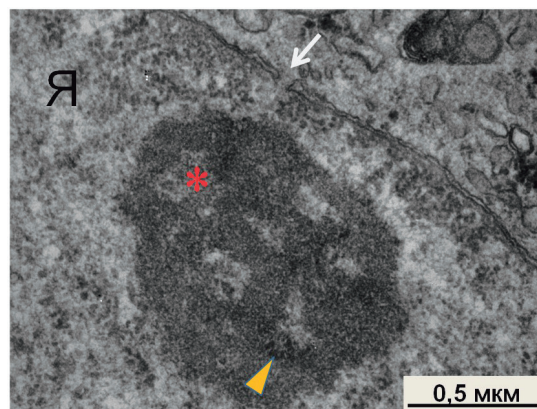
В активных интерфазных ядрышках гепатоцитов человека при электронной микроскопии



**Рисунок 21.** – Ядро гепатоцита (Я): в ядрышке находится несколько ФЦ (стрелки), окруженных кольцами плотного ФК – признак интенсивного синтеза рРНК  
**Figure 21.** – Hepatocyte nucleus (Я): in the nucleolus there are several fibrillar centers (arrows) surrounded by rings of dense fibrillar component – a sign of intensive rRNA synthesis



**Рисунок 22.** – Широкопетлистая нуклеолонемная сеть «сетчатое ядрышко» (стрелка) в гепатоците с расширенными цистернами ЭМС и немногочисленными рибосомами на мембранах ГрЭС  
**Figure 22.** – A wide-looped nucleolonemal network "reticular nucleolus" (arrow) in a hepatocyte with dilated EMS cisterns and few ribosomes on the membranes of GRES



**Рисунок 23.** – Фрагмент ядра (Я) гепатоцита при коинфекции HCV+HIV. Ядрышко почти полностью состоит из ГК – свидетельство нарушения транскрипции генов, кодирующих рРНК. Звездочка – ФЦ; наконечник стрелки – плотный ФК; стрелка – пора в ядерной оболочке  
**Figure 23.** – Fragment of hepatocyte nucleus (Я) in HCV + HIV coinfection. The nucleolus is almost entirely composed of granular component – evidence of a violation of the transcription of genes encoding rRNA. Asterisk - fibrillar centers; arrowhead - dense fibrillar component; arrow - pore in the nuclear envelope

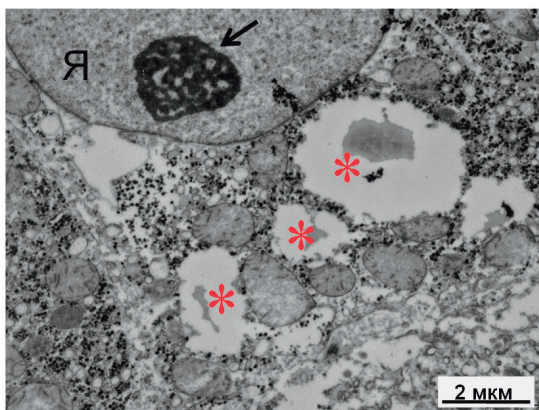


обнаруживаются три основных структурных компонента ядрышек: фибриллярные центры (ФЦ), плотный фибриллярный компонент (ПФК) и гранулярный компонент (ГК). Внутри ядрышка фибриллярные центры обычно расположены в его центральной области. ПФК образует сеть нитей, окружающих ФЦ. ГК обычно располагается в периферических областях ядрышка (рис. 21, 22, 23).

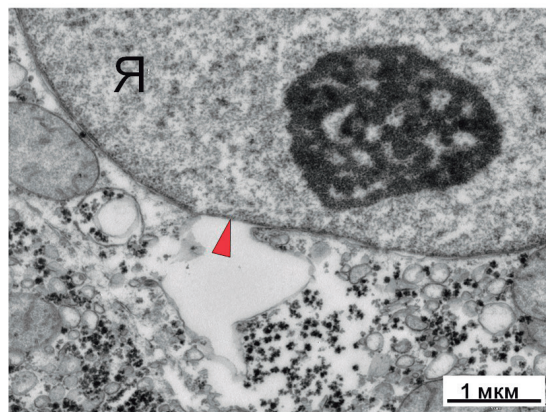
В клетках с низким рибосомальным биосинтезом ядрышки маленькие, обычно с одним ФЦ и небольшим окружающим ПФК и ГК («кольцевидное ядрышко»). В активных клетках ПФК образует большую сеть, включающую несколько ФЦ, а ГК охватывает большую площадь на периферии – «компактные ядрышки» (рис. 21). В клетках в начале новой стимуляции ПФЦ особо заметен, тогда как ФЦ маленькие и немногочисленные, а ГК не очень обширный – «сетчатые ядрышки» (рис. 22) [39].

Транскрипция пре-рРНК происходит по периферии ФЦ, где ПФК представляет собой скопление синтезирующихся молекул 45S пре-рРНК в виде «ёлочки», располагающееся на деконденсированных участках рДНК. В ГК происходит процессинг рРНК, образование и созревание рибосомных предшественников (больших и малых) рибосом; ГК обычно располагается в периферических областях ядрышка (рис. 20). ПФК и ГК ядрышка образуют так называемую ядрышковую нить (нуклеолонему) толщиной 80-100 нм, которая в пределах ядрышка формирует широкопетлистую сеть, выделяющуюся большей плотностью на фоне менее плотного матрикса (рис. 23, 24, 25).

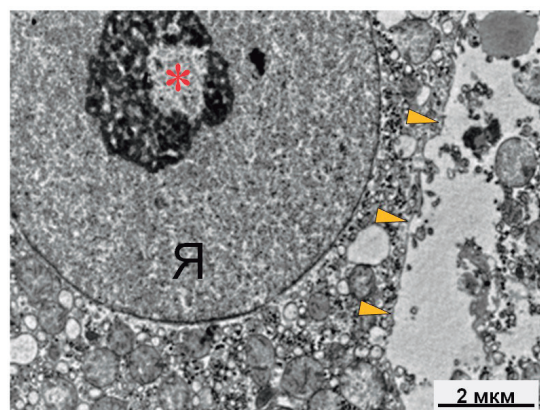
В ультраструктуре ядрышка выявляется два типа светлых зон: первая зона представлена ФЦ, окруженная ПФК-компонентом, а вторая – ядрышковыми вакуолями (рис. 26).



**Рисунок 24.** – Фрагмент цитоплазмы и ядра (Я) гепатоцита: признаки репликации HCV (капли жира в цитоплазме (звездочки) и нарушение целостности ядерной оболочки). На снимке справа – то же ядрышко (стрелка) при большем увеличении  
**Figure 24.** – A fragment of the cytoplasm and nucleus (Я) of the hepatocyte: signs of HCV replication (drops of fat in the cytoplasm (asterisks) and violation of the integrity of the nuclear envelope). The picture on the right shows the same nucleolus (arrow) at higher magnification



**Рисунок 25.** – Ядро гепатоцита (Я), сформированное широкопетлистой нуклеолонемой с многочисленными ФЦ и вакуолями. Место отслоения наружной мембраны ядерной оболочки ядра указано наконечником стрелки  
**Figure 25.** – Hepatocyte nucleus (Я), formed by a wide-looped nucleoloneme with numerous fibrillar centers and vacuoles. External exfoliation the membrane of the nuclear envelope of the nucleus is indicated by the arrowhead



**Рисунок 26.** – Внутриядрышковая вакуоль (звездочка) в ядре (Я) гепатоцита, перенесшего выраженный парциальный некроз (наконечники стрелок) цитоплазмы  
**Figure 26.** – Intranuclear vacuole (asterisk) in the nucleus (Я) of the hepatocyte, which has undergone severe partial necrosis (arrowheads) of the cytoplasm

Полости вакуолей заполнены нуклеоплазмой; в отличие от ФЦ, их окружает ГК; размеры и число вакуолей варьируют в зависимости от функциональной активности ядрышка. Увеличение вакуолей, как правило, сопровождается уменьшением их числа. Крупная вакуоль может находиться в центре, формируя кольцевидное ядрышко (рис. 26).

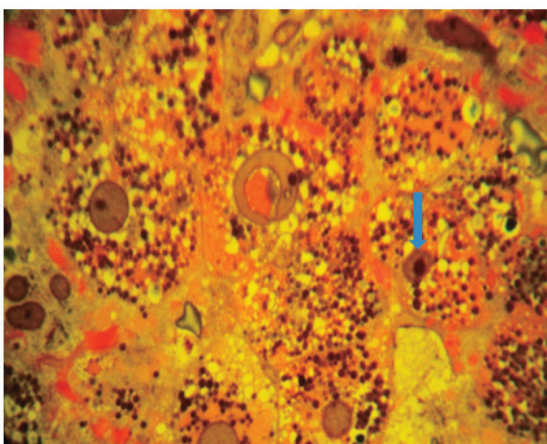
Наряду с биогенезом субъединиц рибосом ядрышко участвует в регуляции клеточного цикла, репликации ДНК, репарации ДНК, биогенезе рибонуклеопротеинов. Имеются данные о связи структуры ядрышка с болезнями человека, контролем роста и пролиферации. Ядрышки также считаются центром метаболического контроля из-за критической роли рибосом в трансляции белка. Нарушения синтеза рРНК тесно связаны с пролиферацией клеток и опухолевым процессом [40, 41].

В паренхиме дистрофически измененной печени пациентов с ХГС состояние ядрышек быстро меняется, обнаруживаются гепатоциты в

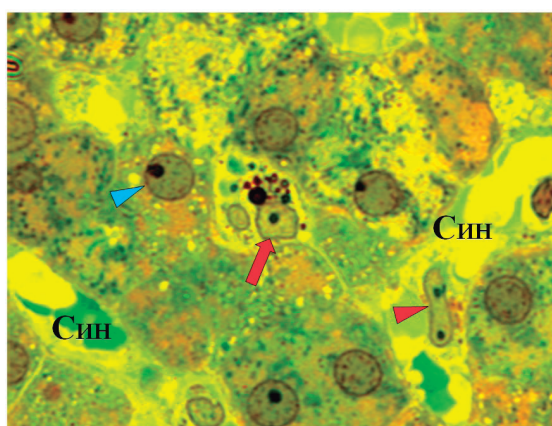


разных фазах (состояниях) жизненного цикла: регенераторной гиперплазии, разных стадиях репликации вируса, апоптоза и некроза. В таких гепатоцитах наблюдаются разная степень выраженности гранулярного и фибриллярного компонентов и разные варианты архитектуры ядрышек (рис. 27, 28) [42].

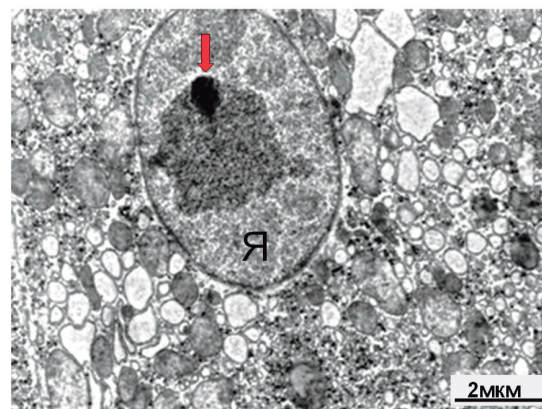
Нами отмечено, что ультраструктурная морфология и размер ядрышек зависят не только от интенсивности синтеза рРНК, но и от скорости транспорта в цитозоль субъединиц рибосом. В гепатоцитах с выраженными дистрофическими изменениями наблюдается явление сегрегации (разделения, расщепления) ядрышка (рис. 29), вызванное полным ингибированием транскрипции генов рРНК.



**Рисунок 27.** – Группа гепатоцитов в состоянии вакуолярной дистрофии. У гепатоцита (в центре) подковообразное ядро; у гепатоцита справа (стрелка) маленькое ядро с непропорционально большим ядрышком.  $\times 1000$   
**Figure 27.** – A group of hepatocytes in a state of vacuolar degeneration. The hepatocyte (in the center) has a horseshoe-shaped nucleus; the hepatocyte on the right (arrow) has a small nucleus with a disproportionately large nucleolus.  $\times 1000$



**Рисунок 28.** – Ядро гепатоцита с крупным ядрышком у ядерной оболочки (синий наконечник) – признак интенсивного синтеза субъединиц рибосом. Красная стрелка – макрофаг, в цитоплазме видны липидная капля, аутофагосомы и вторичные лизосомы. Справа, в синусоиде – ядро (красный наконечник) разрушенного макрофага.  $\times 1000$   
**Figure 28.** – The nucleus of a hepatocyte with a large nucleolus near the nuclear envelope (blue tip) is a sign of intensive synthesis of ribosome subunits. The red arrow is a macrophage; a lipid droplet, autophagosomes, and secondary lysosomes are visible in the cytoplasm. On the right, in the sinusoid, is the nucleus (red tip) of the destroyed macrophage.  $\times 1000$



**Рисунок 29.** – Сегрегация (обособление) компактного ФЦ (стрелка) и гранулярно-фибрилярного компонентов ядрышка в гепатоците с выраженной дистрофией  
**Figure 29.** – Segregation (isolation) of the compact fibrillar center (arrow) and granular-fibrillar components of the nucleolus in a hepatocyte with severe dystrophy

Считают, что причина возмущения многих ядрышковых функций – «ядрышковый стресс», возникающий в ответ на разные химиотерапевтические препараты.

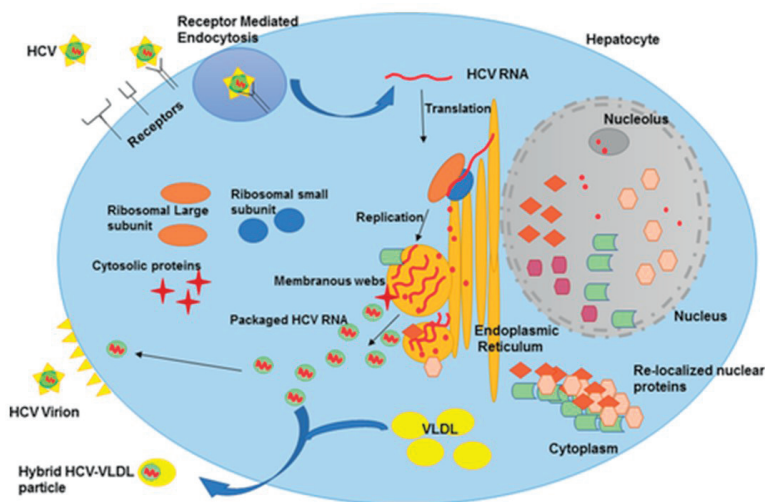
Основные изменения ядрышкового напряжения включают: уменьшение размера и объема ядрышка; ингибирование опосредованного РНК Pol I синтеза рРНК и нуклеоплазматическая транслокация белков, связанных с ядерным стрессом [43, 44]. Гистохимически в ядрышках выявлялась РНК, но не ДНК. ДНК обнаруживалась лишь в периферической зоне ядрышек, в виде так называемого околядрышкового хроматина, который мог прилежать к одной из сторон ядрышка, окружать его кольцом или вообще отсутствовать (рис. 13Г).

Доказано, что околядрышковый хроматин представляет собой гетерохроматиновые зоны, а ядрышки имеют некоторое сродство к солям серебра (обладают аргентофилией), могут восстанавливать серебро из растворов нитрата серебра, «аммиачного серебра», протеинатов серебра. При этом происходит отложение темных осадков исключительно в ядрышках интерфазных клеток, а также в ядрышковых организаторах на митотических хромосомах при делении клетки.

Известно, что РНК-вирусы взаимодействуют с ядрышком, чтобы узурпировать функции клеточных хозяев и рекрутировать ядрышковые белки для облегчения репликации вируса. Изучение взаимодействий между РНК-вирусами и ядрышками может предоставить дополнительные данные, указывающие на состояние гепатоцитов и органа в целом (рис. 28, 29).

Многочисленные вирусные компоненты локализируются в ядрышках, тогда как разные нуклеолярные белки-хозяева перераспределяются в других клеточных компартментах или модифицируются [45].





**Рисунок 30.** – Сегрегация (обособление) компактного ФЦ (стрелка) и гранулярно-фибрилярного компонента ядрышка в гепатоците с выраженной дистрофией

**Figure 30.** – Segregation (isolation) of the compact fibrillar center (arrow) and granular-fibrillar components of the nucleolus in a hepatocyte with severe dystrophy

Большинство РНК-вирусов реплицируются в цитоплазме инфицированной клетки, где происходит весь инфекционный цикл, включая транскрипцию, репликацию РНК-генома и сборку новых инфекционных частиц. Core белок HCV, который в основном локализуется в цитоплазме и ассоциируется с эндоплазматическим ретикулумом и липидными каплями, был обнаружен преимущественно в ядре и ядрышке при делеции С-концевой гидрофобной области (рис. 30) [46, 47, 48]

Как видно из рисунка 30, HCV поступает в клетку посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза (RME). РНК HCV высвобождается в цитозоль, где транскрибируется для получения вирусных белков. РНК HCV затем использует вирусные и клеточные белки для репликации в мембранозной сети. Это сопровождается перемещением некоторых ядерных белков в цитоплазму. Некоторые вирусные белки также локализуются в ядре во время инфекции. За репликацией вирусного генома следует упаковка вируса в виде вириона HCV или гибридной частицы HCV-VLDL [49].

Следовательно, ядрышко, скорее всего, играет положительную роль в репликации вируса. В частности, взаимодействие с ядрышком может стать способом экспорта вируса в цитоплазму ядрышковых факторов, необходимых для его репликации.

Установлено, что нуклеолин (распространенный нуклеолярный белок) совместно с белком NS5B HCV локализуется в перинуклеарной об-

ласти, в которой отсутствует мембранно-якорный домен. Это указывает на то, что вирусный белок дикого типа способен проходить через ядрышко и делокализировать нуклеолин в цитоплазме [50-52].

Значительные дебаты имеют место по поводу про- или антиапоптотической активности основного белка HCV [53]. Индукция или отсутствие апоптоза имеет решающее значение для понимания механизмов, лежащих в основе повреждения печени, вызванного вирусом при хронической HCV-инфекции, и канцерогенеза.

Основной белок HCV считается потенциальным онкопротеином [54]. Что касается капсида HCV, существует несколько изоформ ядра HCV, которые происходят из незрелого полноразмерного белка, который последовательно расщепляется на усеченные белки, причем последний способен локализоваться в ядре и ядрышке [49]. Исследования, проведенные с основным белком, показали, что он может индуцировать и противодействовать апоптозу [47, 55]. Авторы показали, что Core белок HCV влияет на клеточный метаболизм, нарушая транспорт белков в ядро.

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что вирусы нацелены на ядрышко и его компоненты для обеспечения вирусной транскрипции, трансляции и, возможно, изменения клеточного цикла для стимулирования репликации вируса.

### Выводы

При хронической HCV-инфекции происходят изменения во всех компонентах ядерного аппарата, характеризующих структурно-функциональную характеристику гепатоцитов. Оценка архитектурной организации ядерного аппарата в гепатоцитах позволяет предоставить патоморфологам и клиницистам (гепатологам) ценные дополнительные данные, указывающие на важное прикладное значение изменений параметров ядерного аппарата гепатоцитов при ХГС, что будет способствовать более точному мониторингу инфекционного процесса и ускоренной диагностике его трансформации в злокачественный рост.

## References

- Nepomnjashhih DL, Ajdagulova SV, Nepomnjashhih GI. Biopsija pecheni: patomorfogenez hronicheskogo gepatita i cirroza. Moskva: Izdatelstvo RAMN; 2006. 368 p. (Russian).
- Aruin LI, Babaeva AG, Gelfand VB, Glumova VA, Efimov EA, Zotikov EA, Kaufman OJa, Romanova LK, Sarkisov DS, Stepanova EN, Taunov LA, Tumanov P. Strukturnye osnovy adaptacii i kompensacii narushennyh funkcij. Moskva: Medicina; 1987. 448 p. (Russian).
- Zbarskij IB. Organizacija kletchnogo jadra. Moskva: Medicina; 1988. p. 105. (Russian).
- Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, Alnemri ES, Altucci L, Amelio I, Andrews DW, Annicchiarico-Petruzzelli M, Antonov AV, Arama E, Baehrecke EH, Barlev NA, Bazan NG, Bernassola F, Bertrand MJM, Bianchi K, Blagosklonny MV, Blomgren K, Borner C, Boya P, Brenner C, Campanella M, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death And Differentiation*. 2018;25(3):486-541. doi: 10.1038/s41418-017-0012-4.
- Anatomija i funkcija pecheni [Internet]. Available from: <http://www.scriu.com/11/72389372715.php>. (Russian).
- Galdanski L, Urbanek MO, Krzyzosiak WJ. Nuclear speckles: molecular organization, biological function and role in disease. *Nucleus Acids Res*. 2017;45(18):10350-10368. doi: 10.1093/nar/gkx759.
- Sirri V, Urcuqui-Inchima S, Roussel P, Hernandez-Verdun D. Nucleolus: the fascinating nuclear body. *Histochem Cell Biol*. 2008;129(1):13-31. doi: 10.1007/s00418-007-0359-6.
- Gentric G, Desdouets C. Polyploidization in liver tissue. *Am J Pathol*. 2014;184(2):322-331. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.06.035.
- Donne R, Saroul-Ainama M, Cordier P, Celton-Morizur S, Desdouets C. Polyploidy in liver development, homeostasis and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020;17(7):391-405. doi: 10.1038/s41575-020-0284-x.
- Wang MJ, Chen F, Lau JTY, Hu YP. Hepatocyte polyploidization and its association with pathophysiological processes. *Cell Death Dis*. 2017;8(5):e2805. doi: 10.1038/cddis.2017.167.
- Mor A, White A, Zhang K, Thompson M, Esparza M, Muñoz-Moreno R, Koide K, Lynch KW, Garcia-Sastre A, Fontoura BM. Influenza virus mRNA trafficking through host nuclear speckles. *Nat. Microbiol*. 2016;1(7):16069. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.69.
- Marchand V, Santerre M, Aigueperse C, Fouillen L, Saliou JM, Van Dorsselaer A, Sanglier-Cianféroni S, Branlant C, Motorin Y. Identification of protein partners of the human immunodeficiency virus 1 tat/rev exon 3 leads to the discovery of a new HIV-1 splicing regulator, protein hnRNP K. *RNA Biol*. 2011;8(2):325-342. doi: 10.4161/rna.8.2.13984.
- Tazi J, Bakkour N, Marchand V, Ayadi L, Aboufirassi A, Branlant C. Alternative splicing: regulation of HIV-1 multiplication as a target for therapeutic action. *FEBS J*. 2010;277(4):867-876. doi: 10.1111/j.1742-4658.2009.07522.x.
- Dowling D, Nasr-Esfahani S, Tan CH, O'Brien K, Howard JL, Jans DA, Purcell DF, Stoltzfus CM, Sonza S. HIV-1 infection induces changes in expression of cellular splicing factors that regulate alternative viral splicing and virus production in macrophages. *Retrovirology*. 2008;5:18. doi: 10.1186/1742-4690-5-18.
- Bridge E, Xia DX, Carmo-Fonseca M. Dynamic organization of splicing factors in adenovirus-infected cells. *J. Virol*. 1995;69:281-290.
- Nemeroff ME, Barabino SM, Li Y. Influenza virus NS1 protein interacts with the cellular 30 kDa subunit of CPSF and inhibits 3' end formation of cellular pre-mRNAs. *Mol. Cell*. 1998;1:991-1000.
- Rivera-Serrano EE, Fritch EJ, Scholl EH, Sherry BJ. A cytoplasmic RNA virus alters the function of the cell splicing protein SRSF2. *J. Virol*. 2017;91(7):1-16. doi: 10.1128/JVI.02488-16.
- Kasprzak A, Biczysko W, Adamek A, Zabel M. Morphological lesions detected by light and electron microscopies in chronic type C hepatitis. *Pol J Pathol*. 2003;54(2):129-142.
- Tsyrukunov VM, Matsiyevskaya NV, Lukashik SP. HCV-infekcija [HCV infection]. Minsk: Asar; 2012. 480 p. (Russian).
- Tsyrukunov VM, Lukashik SP, Andreev VP, Kravchuk RI, Prokopchik NI. Patoimmunomorfogenez pervichno-hronicheskogo gepatita [Pathoimmunomorphogenesis of primary chronic hepatitis C]. *Infekcionnye bolezni*. 2006;4(2):10-16. (Russian).
- Porovye kolca jadra. Hromatin. Jadrishko [Internet]. Available from: <http://meduniver.com/Medical/gistologia/21.html> (Russian).
- Dobrzynska A, Gonzalo S, Shanahan C, Askjaer P. The nuclear lamina in health and disease. *Nucleus*. 2016;7(3):233-248. doi: 10.1080/19491034.2016.1183848.
- Dutta S, Bhattacharyya M, Sengupta K. Changes in the Nuclear Envelope in Laminopathies. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1112:31-38. doi: 10.1007/978-981-13-3065-0\_3.
- Kang SM, Yoon MH, Park BJ. Laminopathies; Mutations on single gene and various human genetic diseases. *BMB Rep*. 2018;51(7):327-337. doi: 10.5483/bmbrep.2018.51.7.113.
- Schmidt HB, Görlich D. Transport Selectivity of Nuclear Pores, Phase Separation, and Membraneless Organelles. *Trends Biochem Sci*. 2016;41(1):46-61. doi: 10.1016/j.tibs.2015.11.001.
- Kim SJ, Fernandez-Martinez J, Nudelman I, Shi Y, Zhang W, Raveh B, Herricks T, Slaughter BD, Hogan JA, Upla P, Chemmama IE, Pellarin R, Echeverria I, Shivaraju M, Chaudhury AS, Wang J, Williams R, Unruh JR, Greenberg CH, Jacobs EY, Yu Z, de la Cruz MJ, Mironska R, Stokes DL, Aitchison JD, et al. Integrative structure and functional anatomy of a nuclear pore complex. *Nature*. 2018;555(7697):475-482. doi: 10.1038/nature26003.
- Charras GT. A short history of blebbing. *J Microsc*. 2008;231(3):466-478. doi: 10.1111/j.1365-2818.2008.02059.x.
- Nicetto D, Zaret KS. Role of H3K9me3 heterochromatin in cell identity establishment and maintenance. *Curr Opin Genet Dev*. 2019;55:1-10. doi: 10.1016/j.gde.2019.04.013.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molekuljarnaja biologija kletki [Molecular Biology of the Cell]. 2nd ed. Vol. 2. Moskva: Mir; 1994. p. 205. (Russian).
- Bogolyubov DS. Perihromatinovyj kompartment kletchnogo jadra [The perichromatin compartment of the cell nucleus]. *Tsitologiya [Cell and Tissue Biology]*. 2014;56(6):399-409. (Russian).
- The Nuclear Protein Database [Internet]. Available from: <http://npd.hgu.mrc.ac.uk/user/>
- Mao YS, Zhang B, Spector DL. Biogenesis and function of nuclear bodies. *Trends Genet*. 2011;27(8):295-306. doi: 10.1016/j.tig.2011.05.006.
- Biggiogera M, Cisterna B, Spedito A, Vecchio L, Malatesta M. Perichromatin fibrils as early markers of transcriptional alterations. *Differentiation*. 2008;76(1):57-65. doi: 10.1111/j.1432-0436.2007.00211.x.
- Monneron A, Bernhard W. Fine structural organization of the interphase nucleus in some mammalian cells. *J Ultrastruct Res*. 1969;27(3):266-288. doi: 10.1016/s0022-5320(69)80017-1.
- Zhang Q, Kota KP, Alam SG, Nickerson JA, Dickinson RB, Lele TP. Coordinated Dynamics of RNA Splicing Speckles in the Nucleus. *J Cell Physiol*. 2016;231(6):1269-1275. doi: 10.1002/jcp.25224.
- Sinclair GD, Brasch K. The reversible action of alpha-amanitin on nuclear structure and molecular composition. *Exp Cell Res*. 1978;111(1):1-14. doi: 10.1016/0014-4827(78)90230-6.
- Nucleolus [Internet]. Available from: <https://en.wikipedia.org/wiki/Nucleolus>
- Sirri V, Urcuqui-Inchima S, Roussel P, Hernandez-Verdun D. Nucleolus: the fascinating nuclear body. *Histochem Cell Biol*. 2008;129(1):13-31. doi: 10.1007/s00418-007-0359-6.
- McStay B. Nucleolar organizer regions: genomic "dark matter" requiring illumination. *Genes Dev*. 2016;30(14):1598-1610. doi: 10.1101/gad.283838.116.
- Schwarzacher HG, Wachtler F. The nucleolus. *Anat Embryol (Berl)*. 1993;188(6):515-536. doi: 10.1007/BF00187008.



41. Boisvert FM, van Koningsbruggen S, Navascués J, Lamond AI. The multifunctional nucleolus. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(7):574-585. doi: 10.1038/nrm2184.
42. Mangan H, Gailin MÓ, McStay B. Integrating the genomic architecture of human nucleolar organizer regions with the biophysical properties of nucleoli. *FEBS J.* 2017;284(23):3977-3985. doi: 10.1111/febs.14108.
43. Lu L, Yi H, Chen C, Yan S, Yao H, He G, Li G, Jiang Y, Deng T, Deng X. Nucleolar stress: is there a reverse version? *J Cancer.* 2018;9(20):3723-3727. doi: 10.7150/jca.27660.
44. Németh A, Grummt I. Dynamic regulation of nucleolar architecture. *Curr Opin Cell Biol.* 2018;52:105-111. doi: 10.1016/j.ceb.2018.02.013.
45. Salvetti A, Greco A. Viruses and the nucleolus: the fatal attraction. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1842(6):840-847. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.12.010.
46. Falcón V, Acosta-Rivero N, Chinea G, de la Rosa MC, Menéndez I, Dueñas-Carrera S, Gra B, Rodríguez A, Tsutsumi V, Shibayama M, Luna-Munoz J, Miranda-Sanchez MM, Morales-Grillo J, Kouri J. Nuclear localization of nucleocapsid-like particles and HCV core protein in hepatocytes of a chronically HCV-infected patient. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;310(1):54-58. doi: 10.1016/j.bbrc.2003.08.118.
47. Realdon S, Gerotto M, Dal Pero F, Marin O, Granato A, Basso G, Muraca M, Alberti A. Proapoptotic effect of hepatitis C virus CORE protein in transiently transfected cells is enhanced by nuclear localization and is dependent on PKR activation. *J Hepatol.* 2004;40(1):77-85. doi: 10.1016/j.jhep.2003.09.017.
48. Sharma G, Raheja H, Das S. Hepatitis C virus: Enslavement of host factors. *IUBMB Life.* 2018;70(1):41-49. doi: 10.1002/iub.1702.
49. Hirano M, Kaneko S, Yamashita T, Luo H, Qin W, Shiota Y, Nomura T, Kobayashi K, Murakami S. Direct interaction between nucleolin and hepatitis C virus NS5B. *J Biol Chem.* 2003;278(7):5109-5115. doi: 10.1074/jbc.M207629200.
50. Kusakawa T, Shimakami T, Kaneko S, Yoshioka K, Murakami S. Functional interaction of hepatitis C Virus NS5B with Nucleolin GAR domain. *J Biochem.* 2007;141(6):917-927. doi: 10.1093/jb/mvm102.
51. Shimakami T, Honda M, Kusakawa T, Murata T, Shimotohno K, Kaneko S, Murakami S. Effect of hepatitis C virus (HCV) NS5B-nucleolin interaction on HCV replication with HCV subgenomic replicon. *J Virol.* 2006;80(7):3332-3340. doi: 10.1128/JVI.80.7.3332-3340.2006.
52. Jahan S, Ashfaq UA, Khaliq S, Samreen B, Afzal N. Dual behavior of HCV Core gene in regulation of apoptosis is important in progression of HCC. *Infect Genet Evol.* 2012;12(2):236-239. doi: 10.1016/j.meegid.2012.01.006.
53. Moriya K, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Tsutsumi T, Ishibashi K, Matsuura Y, Kimura S, Miyamura T, Koike K. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat Med.* 1998;4(9):1065-1067. doi: 10.1038/2053.
54. Lo SY, Masiarz F, Hwang SB, Lai MM, Ou JH. Differential subcellular localization of hepatitis C virus core gene products. *Virology.* 1995;213(2):455-461. doi: 10.1006/viro.1995.0018.
55. Sacco R, Tsutsumi T, Suzuki R, Otsuka M, Aizaki H, Sakamoto S, Matsuda M, Seki N, Matsuura Y, Miyamura T, Suzuki T. Antiapoptotic regulation by hepatitis C virus core protein through up-regulation of inhibitor of caspase-activated DNase. *Virology.* 2003;317(1):24-35. doi: 10.1016/j.virol.2003.08.028.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

**Сведения об авторах:**

Андреев Виктор Павлович, к.б.н., профессор; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: andrvp@yandex.ru

Цыркунов Владимир Максимович, д-р мед. наук, профессор; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: tvm111@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9366-6789

Кравчук Римма Ивановна, к.б.н.; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: kravchuk@mail.ru

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local ethics committee.

**Information about authors:**

Andreev Viktor, PhD (Biology), Professor; Grodno State Medical University; e-mail: andrvp@yandex.ru

Tsyrukunov Vladimir, PhD, MD (Medicine), Professor; Grodno State Medical University; e-mail: tvm111@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9366-6789

Kravchuk Rimma, PhD (Biology); Grodno State Medical University; e-mail: kravchuk@mail.ru

Поступила: 08.10.2020

Принята к печати: 15.10.2020

Received: 08.10.2020

Accepted: 15.10.2020