

А.Б. Пупышев

ЛИЗОСОМЫ ЧЕЛОВЕКА: БИБЛИОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АКТУАЛЬНЫХ НАПРАВЛЕНИЙ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет

Проведен сравнительный анализ числа публикаций по различным направлениям исследований лизосом человека, содержащихся в базе данных Medline. Максимальный объем публикаций был достигнут к 1990-1994 гг. В период 1990-2004 гг. наибольшее количество работ выполнено на материале (в порядке убывания) спермы, плазмы крови, лейкоцитов, макрофагов, моноцитов. Среди болезней и патологических процессов активно изучаются опухоли и рак, лизосомные болезни накопления, клеточная гибель в целом, апоптоз, некроз клетки, инфекции, стресс. На субклеточном и молекулярном уровне наибольшее число публикаций посвящено эндоцитозу, деградации липидов, гликозидазам, секреции. Приведены данные по большому количеству ключевых слов.

Ключевые слова: наукометрия, библиометрия, лизосомы человека

Лизосомы человека активно изучаются прежде всего в медицинском аспекте. Этот интерес обусловлен двойственностью потенциала лизосом. В норме они выполняют разнообразные физиологические функции, но могут быть и «везикулами-самоубийцами», если в клетке происходит повреждение лизосомной мембраны, изолирующей лизосомные ферменты. Связь лабилизации лизосом с клеточным повреждением и гибелью установлена многочисленными исследованиями [12], однако в настоящее время уже на молекулярно-биологическом уровне демонстрируется их участие в процессах стимулированного апоптоза [10], панкреонекроза [19] и др. патологии [9].

Сложившийся комплекс знаний о лизосомах объединяет как фундаментальные исследования их структуры, функции, регуляции, так и прикладные области, связанные с возможностью использования знаний для целенаправленного воздействия на клетку для получения новых свойств или состояний клетки/организма, а также медицинские аспекты. Результаты исследований позволили раскрыть важнейшие механизмы функционирования лизосом и лизосомно-вакуолярного аппарата, такие, как интернализация рецепторов эндоцитоза (РЭ) и их рециклирование на клеточную поверхность, сегрегация рецепторов и лигандов в компартменте разобщения рецепторов и лигандов, сортировка эндоцитированного материала в везикулы различной клеточной доставки [14], роль рецептора маннозо-6-фосфата (М-6-Ф) как внутриклеточного транспортера лизосомных ферментов [11]. Установлена лизосомная протонная помпа [22], механизмы накопления лизосомотропных соединений (ЛТС) [20]. Выявлены меха-

низмы индукции аутофагии, в частности уровнем отдельных аминокислот [13], микроаутофагия как инструмент селективной деградации белков, связь лизосом с убиквитин-протеасомным путем протеолиза [21]. Достигнуто понимание механизмов наследственных болезней накопления. Разработана заместительная энзимотерапия для лечения болезней накопления. Определены пути и возможности направленной доставки лекарств с использованием этапа их лизосомной локализации [18]. Дана расшифровка механизмов внутрилизосомного процессинга антигена и его возвращения на клеточную поверхность и последующей презентации дендритными клетками [16].

В настоящее время развиваются новые направления в изучении лизосом, обусловленные технологическими достижениями последних десятилетий. Исследуются сложные клеточные системы метаболизма лизосомных субстратов с моделированием внутриклеточного микроокружения присутствием белков-транспортеров субстратов, белков-стабилизаторов ферментов и конформации субстратов [3]. Анализируется протеомика лизосом [17]. Изучается структура трансмембранных РЭ с особым интересом к цитоплазматическому «хвосту», кодирующему адресную транспортировку рецептора, в том числе в лизосомы [4]. Установлены протеолитически активируемые рецепторы (ПАР, PARS) [15]. Высок интерес к эффектам повреждения / гиперэкспрессии отдельных генов в клеточных культурах, а также на уровне целостного организма, получаемым экспериментальной модификацией конкретного гена. Исследуются механизмы рецепции и генерации сигналов РЭ, включая ПАР [8]. Показана

связь лизосом с сигнальной трансдукцией (включая мессенджеры клеточного ответа белки Rab, протеин-киназу C, факторы транскрипции c-fos, c-jun и др.) [6]. Установлена связь лизосомных катепсинов с индукцией апоптоза. Изучаются и используются возможности блокирования лизосомного катаболизма для эффективного переноса нуклеоконструкций в ядро. Разрабатываются генотерапевтические подходы в лечении лизосомных болезней [5], прижизненная коррекция активного центра поврежденного фермента [7].

На сегодня накоплено огромное количество знаний по лизосомам человека. Представляло интерес оценить актуальность разнообразных исследований на человеке и человеческом материале, предпринятых за последние 15 лет.

Методика

В данной работе применен наукометрический/библиометрический подход [1, 2], состоящий в определении количества публикаций по интересующей проблеме посредством поиска по ключевым словам. В качестве источника информации использована база данных «Medline» (Национальная медицинская библиотека США). Проводили поиск по ключевым словам, сопряженным со словом «лизосомы» («lysosomes»). Использованы ограничения выборок по времени (5-летние интервалы либо 15-летний срок), источнику материала (человек, в том числе материал человека, культивируемый *in vitro*), но без ограничений типа публикаций и языка оригинала. Методика не учитывает ранг ключевых слов (более общие или более частные), динамику публикаций по годам, поэтому полученные результаты являются оценочными и представляют интерес в сравнительном аспекте.

Результаты

Динамика публикаций по лизосомам человека, вошедших в «Medline», показывает (Таблица 1), что в период конца 60-х — начала 80-х годов количество работ резко возросло: с 464 в 1965-1969 гг. до 1190 в 1970-1974 гг. и до 1636 в 1980-1984 гг. Позднее рост числа публикаций замедлился, что, по-видимому, отражает стабилизацию количества исследований в этой области. Одновременно нами замечено, что ранние работы — 1965-1980 гг. — лишь частично включены в базу данных Medline, то есть число этих публикаций является недооцененным. С 1990 г. и по настоящее время количество публикаций стабилизировалось, находится на уровне 1700-1800 работ за пятилетие.

Количество публикаций по лизосомам (Таблица 2) в период 1990-2004 гг. (5238) сопоставимо с таковым для аппарата Гольджи (5447) и существенно выше, чем для эндосом (2153) или

Таблица 1

Динамика публикаций по лизосомам в 1965-2004 гг.

Период (годы)	Количество публикаций
1965-1969	464
1970-1974	1190
1975-1979	1368
1980-1984	1636
1985-1989	1577
1990-1994	1745
1995-1999	1794
2000-2004	1685

Таблица 2

Распределение публикаций по некоторым типам органелл

Органеллы	Количество публикаций в период 1990-2004 гг.
Митохондрии	15720
Аппарат Гольджи	5447
Лизосомы	5238
Эндосомы	2153
Пероксисомы	1047

пероксисом (1047), но значительно ниже, чем для митохондрий (15720).

В структуре библиографии по лизосомам прежде всего привлекает интерес распределение публикаций по источнику материала — органам, тканям, клеткам, биологическим жидкостям человека. Надо учитывать, что частота исследования биопрепаратов человека связана не только с научным интересом, но и с доступностью биопрепарата для исследования. Суммарные результаты анализа библиографии за 1990-2004 гг. приведены в таблице 3.

Первую позицию в этом списке занимает **сперма** человека (здесь и далее число в скобках — количество публикаций: 765 работ), что связано с активной ролью лизосом в слиянии мужских половых клеток с женскими, ранним экзоцитозом лизосом/вакуолей, локализующихся в акросомах в ходе слияния гамет, инициирующей ролью секретрируемых протеаз в слиянии мембран, удобной природной моделью слияния биомембран, важностью расшифровки данного конкретного процесса, и это сочетается с доступностью исследования материала сперматозоидов.

Интенсивно изучаются **плазма** (733), **сыворотка** (337), которые являются ценным биоматериалом для разнообразных биохимических исследований и диагностической работы, а также клетки крови — **лейкоциты** (631) в целом, **лимфоциты** (341), **моноциты** (420), осуществляющие свои важнейшие функции с участием лизосом. Много публикаций по тканевым **макрофагам** (тканевым

фагоцитам) (443), богатым лизосомными ферментами, изучаемым как *in vivo* в биопсийном материале, так и *in vitro* в клеточных культурах.

Стабильным интересом исследователей пользуются висцеральные органы, такие, как **печень** (405), **почки** (283), **легкие** (136), **яичники** (116), **селезенка** (104), богатые макрофагальными элементами и лизосомами. Слежение за лизосомами дает информацию об осуществлении ряда клеточных функций, о ходе воспалительного процесса, о повреждении/стабилизации клеточных мембран.

Особое место в исследовании лизосом занимает головной **мозг** (355), поскольку патогенез многих болезней накопления связан с поражением нервной ткани, и важнейшей задачей является адресная терапия мозга, включая прохождение лекарствами и генетическими конструкциями гематоэнцефалического барьера.

Костный мозг (125) является распространенным объектом исследования в связи с проблемой терапии лизосомных болезней с использованием пересадки костномозговых клеток, а также внедрения в них полноценных генов дефектных лизосомных ферментов.

Менее выражен интерес исследователей к анализу лизосомных маркеров в **моче** (115), что частично обусловлено дополнительной необходимостью предварительной очистки мочи от солей для последующего определения активности лизосомных ферментов. Тем не менее, появление их в моче является ценным ранним диагностическим показателем повреждения почек.

Привлекают внимание проблемы, связанные с активной ролью экзоцитируемых лизосом в **тромбоцитах** (88). Существенная роль лизосом **эндотелиальных клеток** сосудов (78) в катаболизме и накоплении модифицированных липидов и формировании атеросклеротических сосудистых изменений определяет достаточно высокую долю публикаций по данной проблеме.

Изучаются лизосомы **поджелудочной железы** (48), поскольку одним из механизмов формирования панкреатита является внутриклеточное освобождение пищеварительных ферментов под действием лизосомных протеиназ.

Отмечается интерес к участию лизосом **дендритных клеток** (77) в расщеплении и сшивке эпитопа с белками гистосовместимости и его презентации, к роли лизосомных ферментов в гидролизе **соединительнотканного матрикса** (62), к выраженной способности **Купферовских клеток** (46) к распознаванию, захвату и внутрилизосомному перевариванию чужеродного материала, а для макрофагов **лимфоузлов** (34) — к захвату детрита и поврежденных клеток. Анализируется участие лизосом в формировании **желчи**, (38) ос-

Таблица 3

Распределение публикаций по лизосомам в зависимости от источника материала (органы, ткани, клетки, биологические жидкости)

№	Биологический материал		Количество публикаций в 1990-2004 гг.
1.	Сперма	Sperm	765
2.	Плазма	Plasma	733
3.	Лейкоциты	Leukocytes	631
4.	Макрофаги	Macrophages	443
5.	Моноциты	Monocytes	420
6.	Печень	Liver	405
7.	Мозг	Brain	355
8.	Лимфоциты	Lymphocytes	341
9.	Сыворотка	Serum	337
10.	Почки	Kidney	283
11.	Мышцы	Muscle	202
12.	Легкие	Lung	136
13.	Костный мозг	Bone marrow	125
14.	Яичник	Ovary	116
15.	Моча	Urine	115
16.	Эндотелий	Endothelium	104
17.	Селезенка	Spleen	104
18.	Гепатоциты	Hepatocytes	91
19.	Тромбоциты	Platelets	88
20.	Сосудистый эндотелий	Vascular endothelium	78
21.	Дендритные клетки	Dendritic cells	77
22.	Соединительная ткань	Connective tissue	62
23.	Поджелудочная железа	Pancreas	47
24.	Купферовские клетки	Kupffer cells	46
25.	Миокард	Myocardium	42
26.	Лимфа	Lymph	40
27.	Желчь	Bile	38
28.	Лимфоузлы	Lymph nodes	34
29.	Кости	Bone	31
30.	Тимус	Thymus	15

Таблица 4

**Количество публикаций по лизосомам
в зависимости от болезни/патологического
состояния**

№	Патология		Число публикаций в 1990-2004 гг.
1.	Опухоли	Tumor	910
2.	Рак	Cancer	674
3.	Лизосомные болезни накопления	Storage diseases	292
4.	Клеточная гибель	Cell death	238
5.	Апоптоз	Apoptosis	196
6.	Терапия лизосомных болезней	Lysosomal diseases therapy	143
7.	Клеточный некроз	Cell necrosis	133
8.	Инфекции	Infections	123
9.	Стресс	Stress	100
10.	Болезнь Альцгеймера	Alzheimer disease	92
11.	Цитотоксичность	Cytotoxicity	90
12.	Лейкемия	Leukemia	83
13.	Воспаление	Inflammation	75
14.	ВИЧ (вирус иммунодефицита человека)	HIV (Human immunodeficiency virus)	66
15.	Инвазивный рост	Invasion	66
16.	Иммунный ответ	Immune response	62
17.	Повреждение мембран	Membrane damage	61
18.	Перекисное окисление липидов	Lipid peroxidation	55
19.	Атеросклероз	Atherosclerosis	53
20.	Гемобластозы	Blood cell cancer	53
21.	Диабет	Diabetes	45
22.	Метастазирование	Metastasis	43
23.	Артрит	Arthritis	41
24.	Туберкулез	Tuberculosis	40
25.	Ишемия	Ishemia	39
26.	Регенерация	Regeneration	24
27.	Гепатит	Hepatitis	22
28.	Множественная лекарственная устойчивость	MDR (multidrug resistance)	21
29.	Старение клеток	Cell senescence	19
30.	Панкреатит	Pancreatitis	18
31.	Язва	Ulcer	14
32.	Вирусный гепатит	Viral hepatitis	14
33.	Гипоксия	Hypoxia	13

вобождении содержимого лизосом/накопительных везикул в желчь.

В целом, проведение исследования на соответствующем биологическом материале определяется, в основном, вышеперечисленными проблемами, но существуют и частные вопросы, рассмотрение которых ограничено тесными рамками данного издания.

Среди патологических состояний, ассоциированных с участием лизосом, безусловным лидером являются **рак** (674) и **опухоли** (910) (Таблица 4). Их исключительное положение обусловлено не только важностью проблемы и высоким содержанием лизосомных ферментов в трансформированных клетках, но и экзоцитозом лизосом, изменением их кислотности при онкотрансформации, их накопительными свойствами, вносящими свой вклад в феномен множественной лекарственной устойчивости. Этим исследованиям способствует и то обстоятельство, что работа с материалом удаленных опухолей не наносит ущерба пациентам.

Заметно меньше исследований по лизосомным **болезням накопления** (292), являющимся, тем не менее, важнейшей проблемой, связанной с ферментной недостаточностью лизосом. Каждая из них в отдельности является редкой или очень редкой болезнью, однако суммарно для примерно 40 болезней накопления встречаемость составляет 1 на 7000 новорожденных. Большая часть их связана с фатальным исходом и тяжелой патологией, что и обуславливает необходимость данных исследований. Большое число работ посвящено **терапии лизосомных болезней** (143), включающей широкий арсенал методов — от хирургического вмешательства до заместительной энзимотерапии, пересадки костного мозга, генотерапии.

Традиционно активно изучается роль лизосом в **клеточной гибели** (238), зависящей от внутриклеточного освобождения лизосомных ферментов при активации липидпероксидации. Появляются новые аспекты, связанные с ферментативной атакой митохондрий. Наблюдается резкий рост числа публикаций по **апоптозу** (196) благодаря участию лизосомных катепсинов (наряду с нелизосомными протеиназами - каспазами) в протеолитическом процессинге сигнальных трансдукторов апоптоза и их регуляторной роли в этом процессе.

Лизосомы имеют важное значение в бактерицидной защите организма в ходе **инфекций** (123), но одновременно могут и терять эту способность при инфицировании возбудителями туберкулеза, бруцеллеза и ряда других инфекций. Реакция лизосом на **стрессорные** воздействия (100) состоит в активации прежде всего аутофагии и реконструктивной функции лизосом и является сущес-

твенным компонентом адаптивных изменений на клеточном уровне. Интенсивно изучается поведение лизосом при **болезни Альцгеймера** (92), сопровождающейся образованием амилоидных белков под действием лизосомных катепсинов и кальпаинов. Исследователей интересуют также вопросы **цитотоксичности** (90) освобождаемых лизосомных ферментов, участия лизосом в **воспалительной реакции** (75), усиливающейся утечкой лизосомных ферментов из лизосом в результате **повреждения мембран** (61). Эти процессы запускаются, в первую очередь, стимуляцией **перекисного окисления липидов** (ПОЛ) (55), хотя существует и другой механизм их повреждения активацией фосфолипазы A2 и образованием поверхностно активных продуктов. Связь ПОЛ с повреждением мембран, легко тестируемым по освобождению лизосомных ферментов, уже давно прошла стадию исследования в эксперименте и находит применение в клинике. Достаточно распространено изучение поведения лизосом при **диабете** (45) и слежение за уровнем лизосомных ферментов в плазме крови как показателем цитолитических осложнений. Анализируется роль локальной секреции лизосомных ферментов диссоциированных онкотрансформированных клеток в процессах **метастазирования** (43). Предметом постоянного интереса является **туберкулез** (40), сопровождающийся блоком слияния фагосом с лизосомами в макрофагах и ускользанием таким образом возбудителя от бактерицидного действия лизосом. Традиционно изучаются лизосомное участие в повреждении/восстановлении клеток после **ишемии** (39), реконструктивная (аутофаговая) функция лизосом при **регенераторных** процессах (24), что, впрочем, затруднено получением биоматериала органов человека. Огромный интерес исследователей к синдрому **множественной лекарственной устойчивости** (МЛУ, MDR) (21) частично распространяется и на лизосомы, поскольку они выступают накопительным компартомента ряда цитостатических препаратов.

Существенное место занимает проблема **клеточного старения** (19), маркером которого обычно является лизосомное, а точнее, тело- и постлизосомное накопление окисленных продуктов, в частности окисленных белков (липофусцин и др.)

Лизосомам отводится важная роль в патогенезе **панкреатита** (18), что соответствует повышенному освобождению и уровню лизосомных ферментов в секрете поджелудочного сока. Гастрит, **язва** (14) желудочно-кишечного тракта отражаются повреждением лизосом клеток слизистой оболочки и вносят вклад в патогенез этих болезней, который продолжает изучаться современными методами.

Суммируя результаты, отметим наиболее высокий интерес исследователей к участию лизосом в процессах онкотрансформации клеток и опухолевому росту, к лизосомным болезням накопления и роли лизосом в клеточной гибели и апоптозе.

Особое место в формировании спектра исследований лизосом человека занимают проблемы, активно изучаемые первоначально на животных или на органных и клеточных культурах, и затем, в силу установления их важной роли в формировании какой-либо патологии, анализируемые и на человеке, диагностическом материале. Эти исследования на животных облегчают выбор стратегии поиска на человеке. Понятно, что общее количество работ на животных существенно превышает таковое на человеческом материале.

Среди таких субклеточных и молекулярных процессов и объектов в организме человека выделяются в первую очередь два массива работ: 1) по **эндоцитозу** (886) в связи с лизосомами и 2) по **деградации липидов** (833) (Таблица 5).

Таблица 5
Распределение публикаций по лизосомам в связке с молекулярными и клеточными процессами/структурами

№	Объекты и процессы		Количество публикаций в 1990-2004 гг.
1.	Эндоцитоз	Endocytosis	886
2.	Дегградация липидов	Lipid degradation	833
3.	Эндосомы	Endosomes	722
4.	Гликозидазы	Glycosidases	703
5.	Секреция	Secretion	526
6.	Катаболизм	Catabolism	475
7.	Рецепторы эндоцитоза	Endocytic receptors	295
8.	Сортинг	Sorting	280
9.	Фагоцитоз	Phagocytosis	246
10.	Сигнальная трансдукция	Signal transduction	242
11.	Катепсины	Cathepsins	238
12.	Индукция	Induction	215
13.	Экзоцитоз	Exocytosis	184
14.	Рецептор манноза-6-фосфата	Mannose-6-phosphate receptor	168
15.	Протеолиз	Proteolysis	155
16.	Главный комплекс гистосовместимости	MHC (major histocompatibility complex)	154

17.	Внутриклеточный транспорт	Traffic	127
18.	Убиквитин	Ubiquitin	110
19.	Редокс-процессы	Redox	108
20.	Терапия болезней накопления	Storage diseases therapy	105
21.	Перенос генов	Gene transfer	103
22.	Биогенез лизосом	Biogenesis	98
23.	Везикулярный транспорт	Vesicular transport	92
24.	Лизосомотропные препараты (соединения)	Lysosomotropic agents	89
25.	Аутофагия	Autophagy	86
26.	Главный комплекс гистосовместимости HLA	HLA (Human leukocytes a-system)	83
27.	Протонная помпа	Proton pump	70
28.	Рецепторы липопротеинов	Lipoprotein receptors	61
29.	Мишенное лекарство	Drug targeting	58
30.	Экскреция	Excretion	55
31.	Фактор некроза опухолей	TNF (Tumor Necrosis Factor)	51
32.	Металлопротеиназы	Metalloproteinases	49
33.	Регуляция транскрипции	Regulation of transcription	48
34.	Гуанозинтрифосфатазы Rab	Rab	47
35.	Эндотоксин	Endotoxin	33
36.	Накопительный компартмент	Storage compartment	33
37.	Накопительные везикулы	Storage vesicles	30
38.	Стабильность мембран	Membrane stability	28
39.	Протеасомы	Proteasome	26
40.	Пиноцитоз	Pinocytosis	25
41.	Внеклеточный протеолиз	Extracellular proteolysis	24
42.	Протеинкиназа C	PKC (protein kinase C)	24
43.	Катионные белки	Cationic proteins	20
44.	Рецепторы-мусорщики	Scavenger receptors	18
45.	Белки теплового шока	HSP (Heat Shock Proteins)	10
46.	Фоточувствительность	Photosensitivity	10
47.	Протеолитически активируемые рецепторы	PARS (proteolytically activated receptors)	8

Эндоцитоз включает жидкостный (собственно пиноцитоз), адсорбционный (в основном рецептор-опосредованный) эндоцитоз и фагоцитоз. В настоящее время наибольший интерес привлекает рецептор-опосредованный эндоцитоз (РОЭ, RME), который достаточно хорошо изучен на уровне молекулярной биологии процесса. Известны рецепторы эндоцитоза, их константы связывания, интернализации, рециклирования. Расшифрованы механизмы внутримембранной агрегации (кластеризации) комплексов лиганд-рецептор, образования клатриновой «сетки» на цитоплазматической поверхности клеточной мембраны, «моторный механизм» ее инвагинации, в значительной мере понятны процессы слияния/расхождения мембран. Известны многочисленные структуры и молекулярные участники сортировки рецепторов и лигандов в везикулы различной клеточной доставки. Показана возможность сигнализации рецепторов на стадии ранних **эндосом (722)**, прекращающейся в поздних эндосомах. Установлена убиквитинизация рецепторов в поздних эндосомах, определяющая их последующую деградацию. Крупный пласт исследований связан с процессами сортировки лигандов для адресации их в различные клеточные компартменты и рециклирования рецепторов на клеточную поверхность. В состоянии активного изучения находятся процессы узнавания родственных везикул, предшествующие их слиянию, и возможности регуляции слияния. Относительно человека представляют интерес ключевые механизмы функционирования эндоцитозного пути транспорта веществ в лизосомы, возможности экспериментальной регуляции сортировки лигандов, рециклирования рецепторов, слияния эндосом (фагосом) с лизосомами, переваривания веществ в лизосомах, их разгрузки.

Расщепление липидов в лизосомах является чрезвычайно актуальным в связи с проблемой атеросклероза, с накоплением эфиров холестерина, окисленных липопротеидов, с опасностью мембрано-лабилизирующего действия фосфолипаз, с внутриклеточным транспортом липидов и продуктов их расщепления.

Крупный блок исследований связан с **гликозидазами (703)** не только и даже не столько по причине их катаболической роли, а прежде всего вследствие того, что их генетические дефекты приводят к формированию лизосомных болезней накопления (отметим, что болезней накопления белка не существует!). Кроме того, эти ферменты в силу развитых и удобных технологий их выявления оказываются востребованными в диагностической работе чаще других лизосомных ферментов.

Секреция лизосомных ферментов (526) интересна прежде всего с той стороны, что клетки лейкоцитарного ряда, клетки иммунной системы, тканевые макрофаги обладают выраженной способностью к секреции лизосомных ферментов, которые вкупе с секретируемыми окислительными ферментами выполняют бактерицидные и другие функции. Нарушения, связанные с активной конститутивной секрецией лизосомных ферментов, характерны для ревматизма и ряда других болезней. Секреция катепсинов опухолевыми клетками выступает как фактор инвазивности и малигнизации процесса.

Частое обращение исследователей к процессам **катаболизма** (475) связано с основным предназначением лизосом расщеплять субстраты, поступившие в них, и эти процессы протекают, безусловно, как организованная, координированная цепочка гидролитических актов во взаимодействии ферментов и с участием кофакторов, белков-стабилизаторов, систем активного транспорта субстратов и продуктов.

Внимание исследователей к **рецепторам эндоцитоза** (295) уже анализировалось выше при рассмотрении эндоцитоза в целом. В эту группу входят рецепторы концевых углеводов маннозы, галактозы, рецепторы сывороточных липопротеинов разных классов, рецепторы-мусорщики, рецепторы М-6-Ф, альфа-гликанов и т.д. В настоящее время эта область является достаточно изученной с молекулярно-биологической стороны, и лишь одно перечисление молекулярных участников и событий актов рецепции и последующей сигнализации большой группы рецепторов эндоцитоза могло бы занять слишком много места.

Подобное количество публикаций характеризует и исследования, посвященные внутриклеточному **сортиingu** (280) везикул и молекулярных маркеров, транспортируемых ими. Как уже упоминалось, пути везикулярного транспорта весьма разнообразны и главный из них, по-видимому, транспорт эндоцитированного (плюс аутофагоцитированного, микроаутофагоцитированного, убиквитинизированного) материала. Но не менее интенсивно изучается и сортинг новосинтезированных молекул белка (ферментов, структурных белков) для включения их в строго определенные структуры и субклеточные системы. Общим принципом является запись адресации белка в его структуре в виде соответствующего фрагмента либо углеводного маркера, например М-6-Ф для транспорта лизосомных ферментов.

Фагоцитоз (246) представляется в настоящее время весьма сложно организованным процессом и, как и РОЭ, также прошел этап молекулярно-биологического рассмотрения. Актуальность его

изучения связана с существованием рецепторов фагоцитоза (к опсонинам — Fc_γ -фрагменту иммуноглобулина G, С3-компонента комплемента и др.), со взаимодействием эндоцитируемого партикулярного субстрата/микроорганизма с фагосомой, существованием незавершенного фагоцитоза, расшифровкой механизмов перемещения клеточной мембраны, окружающей партикулярный субстрат, влиянием природы микроорганизма на слияние фагосом с лизосомами.

Интерес к **сигнальной трансдукции** (242) в связи с лизосомами обусловлен, прежде всего, сигнализацией на уровне рецепции с клеточной поверхности и эндосом, тогда как лизосомы рассматриваются как «кладбище» и лигандов, и рецепторов. И вопрос о том, могут ли лизосомы распознавать и сигнализировать о находящихся в них субстратах и продуктах, пока остается неясным. Тем не менее, в мембране лизосом существует немало транспортных систем, включая протонную помпу, транспортеры некоторых аминокислот, и их регуляция предполагает существование рецепции из лизосом и/или механизма обратной связи.

Катепсины (238) находятся в центре внимания общего (тотального) лизосомного протеолиза, осуществляющего полную деградацию белков до аминокислот последовательным и/или сочетанным действием отдельных ферментов. Но интенсивно изучается и их действие как агентов ограниченного протеолиза, приводящего к образованию функционально активных белков, ферментов, гормонов. Большое внимание уделяется их участию в сигнальной трансдукции апоптоза наряду с цитозольными каспазами. Вместе с металлопротеиназами они рассматриваются как фактор протеолитической атаки опухолевых клеток на интерстициальный белковый каркас, что способствует росту опухоли и метастазированию.

Роль **экзоцитоза** (184) в физиологии лизосом человека уже частично охарактеризована при рассмотрении проблемы секреции. Важное отличие от последней состоит в разнонаправленности путей экзоцитоза (в частности регургитация, транскитоз), в экзоцитозе продуктов расщепления субстратов в лизосомах, среди которых могут быть физиологически активные фрагменты, в возможности стимуляции разгрузки лизосом как части накопительного компартмента, формирующего синдром лизосомной перегрузки фармакоиндуцированной или наследственной природы.

Пик интереса к **рецептору маннозо-6-фосфата** (168) приходится на 80-е годы, когда были открыты механизмы созревания лизосомных ферментов и их внутриклеточного транспорта из транс-Гольджи в лизосомы. Одновременно изу-

чался эндоцитозный путь захвата лигандов рецептора. Установлена наследственная патология (муколипидозы II и III), связанная с дефектом фосфорилирования маннозы в структуре лизосомных ферментов.

Исследование клеточного **протеолиза** (155) в связи с лизосомами определяется как процессом конститутивного лизосомного протеолиза, связанного с конститутивными процессами транспорта субстратов в лизосомы (преимущественно эндоцитоз, микроаутофагоцитоз), так и индуцированным протеолизом, зависящим, в первую очередь, от индукции аутофагии собственного клеточного материала. В последнем случае активность лизосомного протеолиза может превышать активность внелизосомного расщепления белка. Для прикладной лизосомологии имеет значение возможность регуляции индуцированного протеолиза, а также ограниченного протеолиза как источника зрелых молекул гормонов и физиологически активных веществ.

Многочисленные исследования посвящены проблеме процессинга антигена в системе главного комплекса гистосовместимости **MHC** (154), внутрилизосомной сшивки продукта частичной деградации антигена с молекулой гистосовместимости ткани **HLA** (83). Анализируются возможности экспериментального влияния на процессинг антигена. Клеточная «кухня» по приготовлению дендритными клетками антигена к презентации лимфоцитам изучается весьма активно в силу высокого медико-биологического значения проблемы.

Наблюдается повышенный интерес к вопросам **внутриклеточного транспорта** (127), «трафика» (traffic), обусловленный не только важностью проблемы внутриклеточной адресации макромолекул, но и успехами молекулярной биологии в расшифровке олигопептидных последовательностей, кодирующих информацию о субклеточной «мишени» белка, в установлении молекулярных участников внутриклеточного транспорта.

Блестящая расшифровка проблемы селективной деградации белка, сопряженной с его сшивкой с молекулой **убиквитина** (110) и последующим транспортом в протеасомы, была отмечена в 2004 г. Нобелевской премией в области медицины. «Помечаются», в первую очередь, окисленные белки. Этот путь протеолиза имеет лизосомный аналог в виде микроаутофагии, а в связи с лизосомами участвует в деградации РЭ на уровне их локализации в мультивезикулярных тельцах (ассоциированной с деубиквитинизацией). Изучается его взаимодействие с лизосомным протеолизом.

Изменение лизосом в связи с модификацией **окислительно-восстановительных процессов** (108) имеет три важнейших аспекта: нарушение стабильности мембран при окислительном стрессе, окислительная модификация белков (в частности липопротеинов крови), отражающаяся на их захвате и внутрилизосомном расщеплении, и, наконец, накопление окисленных белков (в частности липофусцина) являющееся «хронометром» клеточного старения.

Постоянно растет интерес к терапии **болезней накопления** (105). Предпринимаются настойчивые попытки ускорить переход к генной терапии этих болезней, поскольку заместительная энзимотерапия оказалась весьма ограниченной в своих возможностях. Формируется целый спектр терапевтических подходов: хирургическая, метаболическая коррекция, пересадка клеток костного мозга здорового генотипа, блокировка синтеза накапливающихся субстратов, стимуляция экзоцитоза и т.д. Однако важнейшая задача исправления генетической структуры соматических клеток, клеток нервной ткани, головного мозга, преодоления гемато-энцефалического барьера для лекарств и генетических конструкций решается крайне трудно.

Проблема **переноса генов** (генетических конструкций) (103) в ядро в связи с лизосомами обусловлена существованием удобного эндоцитозного пути транспорта конструкций в клетку, и задача экспериментаторов уберечь их от транспорта и деградации в лизосомах. С этой целью постоянно изучаются новые средства прижизненного освобождения нуклеоконструкций из эндосом и лизосом (декстран-сульфат, фотосенсибилизация и т.д.).

Везикулярный транспорт (92) макромолекул является в значительной мере аналогом внутриклеточного транспорта, рассмотренного ранее. Важно, что практически все процессы внутриклеточного перемещения везикул получают расшифровку в виде существования конкретных механизмов упаковки, адресации, движения, распознавания, слияния/отпочкования, рециклирования компонентов. Крайне важно найти средства для экспериментальной модификации ключевых стадий везикулярного транспорта. Именно эту задачу помогают решать **лизосомотропные препараты (соединения)** (ЛТС, ЛТА) (89), часть которых — слабые основания, например, хлорохин, накапливаясь в лизосомах/эндосомах по механизму протонной ловушки, вызывают блок рециклирования рецепторов, торможение слияния родственных лизосомам везикул, подавление внутрилизосомного катаболизма. Другие ЛТС (кроме, пожалуй, мембранотропных поверхностно активных веществ) оказывают значительно

меньший эффект на функцию лизосом, хотя на уровне организма патогенез болезней накопления, вызванных ферментной недостаточностью, в значительной мере связывают именно с синдромом лизосомной перегрузки. ЛТС являются выражено гетерогенной группой по механизму накопления и действия на лизосомы и клетку и поэтому все реже объединяются по признаку локализации, хотя накопление лекарств в лизосомах изучается очень широко.

Аутофагия (86) обнаружена вскоре после открытия лизосом, однако механизмы ее стимуляции и избирательности мембранного обособления органелл (предполагается, поврежденных) становятся более понятными только в последние десятилетия. Установлено значение недостатка отдельных аминокислот для стимуляции аутофагии в клетках *in vitro*. Аутофагия продолжает активно изучаться как показатель клеточного стресса. Появляются новые аспекты, связанные с ее участием в гибели клетки.

Высокая степень понимания работы протонной помпы (70) лизосом (H^+/K^+ -АТФ-азы), обеспечивающей кислый pH внутри лизосом, достигнута в 70-х годах. Найдено достаточно много препаратов, ингибирующих помпу, а также связывающих протоны в лизосомах и тем самым повышающих внутрилизосомный pH. Обнаружены отличия протонного насоса в лизосомах и эндосомах.

Рецепторы липопротеинов (61), осуществляя захват и интернализацию липопротеинов различных классов, играют ключевую роль в транспорте холестерина и его эфиров в клетку, в частности в гепатоциты и эндотелициты. Окисленные липопротеины захватываются преимущественно посредством **рецептора-мусорщика** («сквенджер») (18), участвующего в атерогенных процессах. Достаточно много работ устанавливают сигнальную роль рецепторов липопротеинов в инициации различных клеточных ответов.

Настойчиво изучаются возможности эндоцитозного захвата и процессинга лекарственных препаратов в рамках глобальной междисциплинарной проблемы **направленной доставки лекарств** (58) в клетки-мишени. Первостепенное внимание уделяется раковым клеткам и препаратам цитостатического ряда (метатрексат, дауномицин), мощным цитотоксинам (рицин и др.), которые в лизосомах должны гидролитически освободиться из комплекса с носителем, проникать через лизосомную мембрану в цитозоль и действовать на субклеточную мишень.

Обнаружение лизосомных ферментов в экскретируемом материале (моча, желчь и др.) (55) в повышенных концентрациях является признаком

органной патологии и используется в диагностических целях.

Фактор некроза опухолей (ФНО, TNF- α) (51) активно изучается в связи с возможностью его активации и запуска апоптоза посредством лизосом, в частности лизосомного фермента катепсина В. Интенсивно исследуются **металлопротеиназы** (49), способные расщеплять соединительнотканый матрикс. Накапливаются данные об их участии в инвазивном росте опухоли, устанавливается связь с малигнизацией, метастазированием.

Протеолитический потенциал лизосом (в первую очередь, катепсин В) обуславливает их участие в **регуляции транскрипции** (48) посредством ограниченного протеолиза, генерации активированных мессенджеров и/или факторов регуляции транскрипции. Изучается эффект на активацию систем ФНО, факторов транскрипции STAT, Fas и т.д.

Одним из мессенджеров клеточного ответа являются низкомолекулярные ГТФ-азы, называемые **Rab** (47), которые участвуют в запуске клеточной дифференцировки при онкотрансформации и связаны с активностью лизосом. Нередко Rab изучаются в связи с регуляцией внутриклеточного транспорта эндоцитозных везикул.

Цитотоксическое действие **эндотоксина** (33) в значительной мере ассоциировано с рецепторным захватом эндотоксина, интернализацией данного липополисахарида и ролью лизосом как мессенджера клеточного повреждения.

Исследование **накопительного компартмента** (33) клетки и его связь с лизосомами имеет важное значение в понимании болезней накопления, поиске механизмов рецепции накапливающегося материала, реакции клетки на накопление, включая разгрузку **накопительных везикул** (30).

Стабильность мембраны (28) лизосом является традиционным объектом изучения в связи с повреждением лизосом и освобождением лизосомных ферментов при различной патологии. С этой проблемой тесно связана возможность слежения за терапевтическими мембраностабилизирующими эффектами препаратов и воздействий.

Катаболизм белка, инициируемый убиквитинизацией, протекает в **протеасомах** (26), однако в плане взаимодействия с лизосомами интерес к ним существенно ниже, чем к избирательному маркированию белка убиквитином, которое распространяется также и на лизосомные белки.

Исследование **пиноцитоза** (25) в настоящее время трансформировалось в изучение адсорбционного эндоцитоза и жидкостного пиноцитоза, при этом интерес к последнему, все больше являющемуся синонимом пиноцитоза, сохраняется прежде всего в плане его регуляции.

Внеклеточный протеолиз (24), связанный с лизосомами, обусловлен секрецией лизосомных протеиназ (катепсинов В, D, L, коллагеназы, эластазы), которые ответственны за деградацию внеклеточного матрикса в процессах роста опухолей, а также ограниченный протеолиз белков плазмы крови под действием секретируемых кининогеназы, активатора плазминогена и т.п.

Протеинкиназа С (**PKC**) (24) исследуется как регуляторный элемент в связи с анализом механизма слияния сперматозоида с яйцеклеткой (экзоцитоза акросом), а также с сортированием эндолитозных везикул, процессами слияния родственных везикул, дегрануляцией лейкоцитов.

Катионные белки (20) представляют собой бактерицидный потенциал лейкоцитов, что важно в оценке антиинфекционной защиты организма.

Интерес к **рецепторам-«мусорщикам»** («scavenger») (18) определяется их функцией удаления аномальных (чужеродных, денатурированных и модифицированных) белков, а также участием в захвате модифицированных липопротеинов, являющихся атерогенными.

В последние годы в связи с успехами молекулярной биологии функционирование лизосом изучается на новом уровне, с привлечением анализа таких мессенджеров клеточного ответа, как белки теплового шока (**HSP**) (10), фактор регуляции транскрипции NFκB, сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции STAT, и количество подобных публикаций будет неизбежно расти, так как молекулярная биология лизосом еще недостаточно изучена. Вместе с тем показано, что NFκB защищает клетки от лизосомозависимого пути клеточной гибели.

В качестве резюме следует отметить, что наибольший интерес привлекают такие блоки исследований, как эндоцитоз, деградация липидов, гликозидазы, секреция и катаболизм. Среди достаточно «молодых» тем актуальны РЭ, внутриклеточный сортирование, сигнальная трансдукция с участием лизосом, рецепторы М-6-Ф, перенос нуклеоконструкций в ядро с участием лизосомного компартмента. В последнее время активно изучаются механизм процессинга и презентации антигена в системе HLA и лизосом, участие лизосом в апоптотическом эффекте ФНО, ГТФ-азы Rab как фактор регуляции везикулярного транспорта, локализующийся в везикулярном аппарате.

Безусловно, данный подход к оценке актуальности изучаемых проблем зависит от временной динамики прироста публикаций, выступающей как аналог производной в дифференциальных уравнениях. Особенно важен прирост публикаций в последние годы, отражающий концентрацию интереса исследователей, базирующегося

на детальном молекулярно- и клеточно-биологическом знании и достижениях технологического прогресса. К таковым можно отнести молекулярные регуляторы клеточного ответа и сигнальной трансдукции, функционирующие с участием лизосом (NFκB, ГТФ-азы Rab, протеинкиназа С, синаптотаксин VII и др.) либо оказывающие регуляторное действие на функции лизосом (ГТФ-азы Rab, лизосомаассоциированные мембранные белки LAMP и др.), участие катепсинов в генерации апоптоза, ограниченный протеолиз ферментов, физиологически активных веществ, рецепторов (PARS) и т.д. Однако это задача уже другого аналитического исследования.

Выражаю искреннюю признательность главному библиографу СБО ГПНТБ СО РАН Т.В. Ремизовой за консультативную помощь в выборе библиометрической технологии исследования.

HUMAN LYSOSOMOLOGY: BIBLIOMETRIC ESTIMATION OF FREQUENCY OF PUBLICATIONS IN VARIOUS RESEARCH DIRECTIONS

A.B. Pupyshv

The comparative analysis of the number of publications contained in the database Medline devoted to various aspects of human lysosomes was performed. Maximal quantity of publications was reached in to period 1990-1994. During 1990-2004 the highest number of works was made on material of (in order of reduction) sperm, blood plasma, leukocytes, macrophages, monocytes. The leaders among diseases and pathological processes are tumors and cancer, lysosomal storage diseases, cell death as whole, apoptosis, cell necrosis. At the subcellular and molecular level the most frequently published works were devoted to endocytosis, degradation of lipids, glycosidases, secretion. There are data on a large number of keywords.

Литература

1. Афанасьева Л.С., Жукова А.А. Анализ библиографических данных как метод выявления актуальности медицинской проблемы / Л.С. Афанасьева, А.А. Жукова // Сов. библиогр. — 1985. — № 6. — С. 36-38.
2. Курганов Н.А. Наукометрический анализ потока периодических изданий по кардиохирургии на базе MEDLINE / Н.А.Курганов // Новые технологии в информационно-библиотечном обеспечении научных исследований. — М., 1992. — С. 161-164.
3. Aerts J.M. Biochemistry of glycosphingolipid storage disorders: implications for therapeutic intervention / J.M. Aerts, C. Hollak, R. Boot, A. Groener // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. — 2003. — Vol. 358. — № 1433. — P. 905-914.

4. Bonifacino J.S. Signals for sorting of transmembrane proteins to endosomes and lysosomes / J.S. Bonifacino, L.M. Traub // *Annu. Rev. Biochem.* — 2003. — Vol. 72. — P. 395-447.
5. Cabrera-Salazar M.A Gene therapy for the lysosomal storage disorders / M.A. Cabrera-Salazar, E. Novelli, J.A. Barranger // *Curr. Opin. Mol. Ther.* — 2002. — Vol. 4. — № 4. — P. 349-358.
6. Complex mechanisms for c-fos and c-jun degradation / I. Jariel-Encontre, C. Salvat, A.M. Steff // *Mol. Biol. Rep.* — 1997. — Vol. 24. — № 1-2. — P. 51-56.
7. Desnick R.J. Enzyme replacement and enhancement therapies for lysosomal diseases / R.J. Desnick // *J. Inher. Metab. Dis.* — 2004. — Vol. 27. — № 3. — P. 385-410.
8. Gonzalez-Gaitan M. Signal dispersal and transduction through the endocytic pathway / M. Gonzalez-Gaitan // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* — 2003. — Vol. 4. — № 3. — P. 213-224.
9. Gozuacik D. Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism / D. Gozuacik, A. Kimchi // *Oncogene.* — 2004. — Vol. 23. — № 16. — P. 2891-2906.
10. Guicciardi M.E. Lysosomes in cell death / M.E. Guicciardi, M. Leist, G.J. Gores // *Oncogene.* — 2004. — Vol. 23. — № 16. — P. 2881-2890.
11. Hille-Rehfeld A. Mannose 6-phosphate receptors in sorting and transport of lysosomal enzymes / A. Hille-Rehfeld // *Biochim Biophys Acta.* — 1995. — Vol. 1241. — № 2. — P. 177-194.
12. Holtzman E. Lysosomes / E. Holtzman. — 2nd ed. — New York; London. — 1989.
13. Klionsky D.J. Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation / D.J. Klionsky, S.D. Emr // *Science.* — 2000. — Vol. 290. — № 5497. — P. 1717-1721.
14. Mukherjee S. Endocytosis / S. Mukherjee, R.N. Ghosh, F.R. Maxfield // *Physiol. Rev.* — 1997. — Vol. 77. — № 3. — P. 759-803.
15. Ossovskaia V.S. Protease-activated receptors: contribution to physiology and disease / V.S. Ossovskaia, N.W. Bunnett // *Physiol. Rev.* — 2004. — Vol. 84. — № 2. — P. 579-621.
16. Pieters J. MHC class II compartments: specialized organelles of the endocytic pathway in antigen presenting cells / J. Pieters // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 378. — № 8. — P. 751-758.
17. Proteomic analysis of human lysosomes: application to monocytic and breast cancer cells / A. Journet, A. Chapel, S. Kieffer et al. // *Proteomics.* — 2002. — Vol. 2. — № 8. — P. 1026-1040.
18. Rihova B. Targeting of drugs to cell surface receptors / B. Rihova // *Crit. Rev. Biotechnol.* — 1997. — Vol. 17. — № 2. — P. 149-169.
19. Role of cathepsin B in intracellular trypsinogen activation and the onset of acute pancreatitis / W. Halangk, M.M. Lerch, B. Brandt-Nedelev et al. // *J. Clin. Invest.* — 2000. — Vol. 106. — № 6. — P. 773-781.
20. Steinberg T.H. Cellular transport of drugs / T.H. Steinberg // *Clin. Infect. Dis.* — 1994. — Vol. 19. — № 5. — P. 916-921.
21. Strous G.J. The ubiquitin-proteasome system and endocytosis / G.J. Strous, R. Govers // *J. Cell Sci.* — 1999. — Vol. 112. — Pt. 10. — P. 1417-1423.
22. Van Dyke R.W. Acidification of lysosomes and endosomes / R.W. Van Dyke // *Subcell. Biochem.* — 1996. — Vol. 27. — P. 331-360.