

А. С. ЛОГИНОВ, Е. Д. МАКАРЬЕВА, В. В. УЛЬЯНОВА,
В. Д. ТКАЧЕВ, М. А. ТУМАНЯН

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ КОЛЛАГЕН В ГЕПАТОЦИТАХ ПРИ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ

При электронно-микроскопическом исследовании в гепатоцитах больных первичным билиарным циррозом печени и при воздействии на печень крыс циклогексимида обнаружены коллагеновые волокна. Высказывается предположение о возможности внутриклеточного накопления коллагена при патологии печени.

Впервые накопление коллагена в цитоплазме гепатоцитов наблюдали А. С. Логинов с соавт. у больных холестатическим гепатитом [2]. Значительно позже появились сообщения о способности гепатоцитов в культуре синтезировать коллаген [9, 13]. Целью настоящей работы является изучение морфогенеза коллагеновых волокон в цитоплазме гепатоцитов при патологии печени.

Материал и методы

Изучен биопсийный материал печени у 17 больных первичным билиарным циррозом. Фрагменты ткани фиксировали 0,5% глутаральдегидом на 0,1 М какодилатном буфере (рН=7,2), затем 1% четырехокисью осмия на том же буфере, обезвоживали и заливали в аралдит. Кислые фосфатазы выявляли свинцовым методом [6]. В эксперименте изучали действие циклогексимида (ЦГИ)—антибиотика, блокирующего рибосомальный синтез белка на стадии транслокации, на ультраструктуру печени [1]. Опыты проводились на 24 беспородных крысах-самцах массой 180—200 г. Голодающим животным в течение 18 часов вводили внутривенно однократную дозу ЦГИ (0,3 мг на 100 г массы в 0,3 мл 0,14 М раствора хлористого натрия). Контрольные животные получали соответствующий объем физраствора. Под эфирным наркозом печень префиксировали через 1/2, 1, 3 и 6 часов после начала эксперимента вышеназванным префиксатором методом внутрисосудистой перфузии через портальную вену [4]. Срезы, полученные на ультратоме Ultracut E (Reichert), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца (при проведении цитохимических реакций срезы не докрасивали, либо контрастировали одним уранилацетатом). Материал просматривали в электронном микроскопе JEM-1200EX (Япония) при напряжении 80 кВ и апертурной диафрагме 30 мк. Инструментальное увеличение 2800—30000X.

Результаты и обсуждение

При электронно-микроскопическом изучении биопсийного материала печени больных первичным билиарным циррозом иногда выявляются гепатоциты с интактной плазматической мембраной в плоскости среза, в цитоплазме которых имеются волокна зрелого коллагена (рис. 1а). Чаще всего коллагеновые фибриллы располагаются вблизи ядра, значительно реже—по периферии клетки. Обнаружение волокон коллагена с хорошо выраженной поперечной внутриклеточной исчерчен-

ностью позволило нам предположить возможность повреждения клеточной оболочки вне плоскости среза и «зарастание» гепатоцита соединительно-тканными волокнистыми структурами, поскольку коллаген, точнее его четвертичная молекула, несомненно, является экстраклеточным белком. И действительно, мы не располагаем данными для достоверной реконструкции серийных срезов гепатоцитов с внутриклеточной локализацией коллагена, так как подобные клетки в печени встречаются довольно редко. В литературе, однако, имеются сообщения о внутриклеточной локализации коллагеновых фибрилл в фибробластоподобных клетках [7] и гепатоцитах [2, 3, 5, 12].



Рис. 1. а. Коллагеновые фибриллы в цитоплазме гепатоцита вблизи ядра при первичном билиарном циррозе печени. Ув. 78000X. б. Локализация кислых фосфатаз (показано стрелкой) в гепатоцитах при первичном билиарном циррозе. Ув. 52000X. Обозначения: Г—гепатоцит, Я—ядро, К—коллагеновые волокна.

Гомеостаз коллагеновых соединительно-тканных волокон (К)—это подвижная двухфазная система, составляющими которой являются процессы синтеза (С) и резорбции (Р). Иными словами, продукция коллагена является функцией синтеза и резорбции, т. е. $K = \frac{C}{f \cdot P}$. Поэтому мы предприняли попытку выяснить—не подвержены ли коллагеновые волокна, локализованные в цитоплазме вне фагосомы, процессу фиброклазии? Подобно фибробластам гепатоциты способны принимать участие в резорбции коллагена [5]. Цитохимическим маркером коллагеноклазии на электронно-микроскопическом уровне является реакция на активность кислых фосфатаз. При изучении кислых фосфатаз свинцовым методом продукт цитохимической реакции выявляется в светлой зоне цитолита и не обнаруживается вблизи тяжей коллагена (рис. 1б). На наш взгляд, эти данные согласуются с результатами цитохимического изучения кислых фосфатаз в регенерирующей печени крыс. Так, в случае обнаружения коллагеновых структур в вакуолях гепатоцитов активность кислых фосфатаз вблизи коллагена была положительной, а при свободной локализации в цитоплазме не выявлялась [5]. Таким образом, на основании отсутствия унитарной мембраны, окружающей коллагеновые фибриллы в цитоплазме гепатоцитов, а также продукта цитохимической реакции вблизи волокон можно считать, что активность кислых

фосфатаз в зоне локализации коллагеновых структур отрицательная, значит, и вся правая часть уравнения превращается в минус. Следовательно, формирование коллагена в нашем случае является результатом его синтеза, несомненно аномального, гепатоцитами при патологии печени.

Из литературы известно, что культура гепатоцитов способна синтезировать коллаген I и III типа уже после 18 часов культивирования, причем в культуральной среде содержится 91,3% синтезируемого коллагена, а в клеточной фракции 8,7% [9]. По-видимому, этот процент может отражать содержание коллагеновых структур в цитоплазме гепатоцитов.

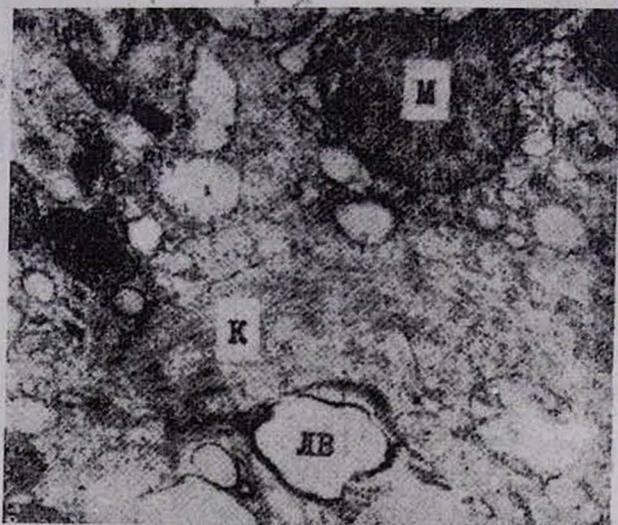


Рис. 2. Коллагеновые волокна в цитоплазме гепатоцита после введения крысам циклогексимида. Ув. 30000X. Обозначения: М—митохондрии, ЛВ—липидные включения, К—коллагеновые волокна.

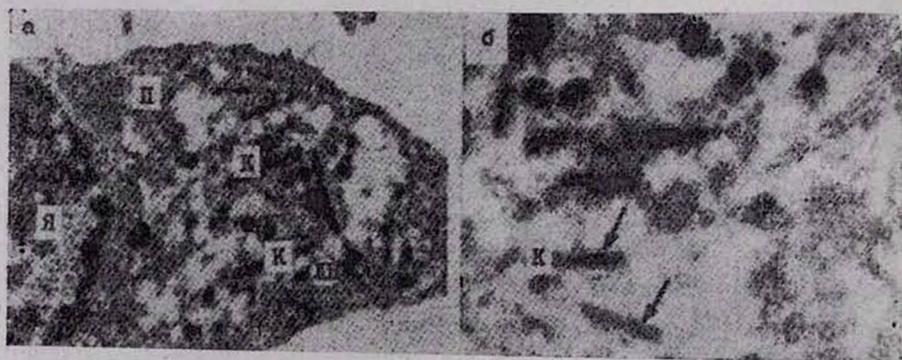


Рис. 3. а. Фибриллярные включения в цитоплазме перисинусоидальных клеток после введения крысам циклогексимида. Ув. 32000X. б. Фрагмент перисинусоидальной клетки при большом увеличении. Стрелкой показана поперечная исчерченность. Ув. 90000X. Обозначения: П—перисинусоидальная клетка, Я—ядро, ЛВ—липидные включения, К—коллагеновые волокна.

Синтез коллагена, как и любого глобулярного протеина, происходит в эндоплазматическом ретикулуме. Сборка и стабилизация нативной молекулы коллагена в норме осуществляется внеклеточно на наружной поверхности цитоплазматической мембраны. При патологии печени, в частности первичном билиарном циррозе, может иметь место поломка на одном из этапов синтеза коллагена. Было бы парадоксально предполагать, что повреждение происходит на первом этапе образования про- α -цепей и их гидроксирования, так как в цитоплазме гепатоцитов мы видим тяжи зрелого коллагена с хорошо выраженной поперечной исчерченностью. Более уместно допустить, что поломка происходит на втором этапе секреции молекулы проколлагена и затем его самосборки в цитоплазме клетки.

Известно, что повреждение эндоплазматического ретикулума можно получить при воздействии ЦГИ. В эксперименте на мышах нами изучено повреждающее действие ЦГИ на ультраструктуру печени. Исследования показали, что через 30 мин после введения сублетальной дозы ЦГИ отмечается набухание, а в дальнейшем и вакуолизация цистерн эндоплазматического ретикулума. Цитоплазма гепатоцитов содержит набухшие и вакуолизированные митохондрии, а также большое количество липидных включений, занимающих значительную часть клетки. В отдельных гепатоцитах можно наблюдать коллагеновые волокна с хорошо выраженной поперечной исчерченностью (рис. 2). Кроме того, фибриллы коллагена выявляются в цитоплазме перисинусоидальных клеток (рис. 3а, б). Последние (клетки Ито) представляют собой фибробластоподобные клетки, которым отводится основная роль в синтезе и резорбции соединительно-тканых волокнистых структур в печени. Таким образом, появление коллагеновых волокон в цитоплазме гепатоцитов и перисинусоидальных клеток в ответ на их повреждение ЦГИ, механизм действия которого известен, отражает, на наш взгляд, причинно-следственные связи коллагенсинтетической активности гепатоцитов при патологии.

В литературе имеются сведения, что генетическое кодирование первичной структуры коллагена определяет его вторичную, третичную и четвертичную структуры и, таким образом, самосборка молекул в фибриллы может происходить не только на поверхности цитоплазматической мембраны, но и в любом локусе, где создается соответствующий ионный состав [8]. Такое «дистанционное» фибриллообразование показано при секреции коллагена мезенхимальными и эпителиальными клетками с мечеными предшественниками [10]. По современным представлениям, процесс сборки молекулы коллагена осуществляется на уровне рецепторов, локализованных на цитоплазматической мембране. Роль рецептора выполняет фибронектин—гликопротеин, устойчивый к коллагеназе, но чувствительный к трипсину. Фибронектин или LETS-протеин может существовать в растворимой форме в плазме и в виде структурного протеина в клеточном гликокаликсе. В бислой цитоплазматической мембраны вкраплены протеины, которые могут «пронизывать» всю толщину мембраны, либо локализоваться на одной из ее поверхностей. Фибронектин может образовать своеобразный «сэндвич», с одной стороны,

с отрезками протеина-клястера, а с другой—с фибриллами коллагена. В норме эти комплексы образуются на поверхности цитоплазматической мембраны, и сборка коллагена происходит в экстраклеточном пространстве. При повреждении печени, вызванном однократным введением четыреххлористого водорода, уже через час после инъекции отмечается накопление фибронектина в цитоплазме гепатоцитов, а к третьим суткам эксперимента уровень фибронектина увеличивается в 3—15 раз по сравнению с исходным [7]. Известно, что внутри клеток фибронектин связан с актиноподобным белком [11]. Последний, на наш взгляд, при патологии печени может выполнять роль цитоплазматического интегрального белка, а фибронектин, достраивая «сэндвич», формирует молекулу коллагена в цитоплазме гепатоцита.

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют, что при патологии печени имеет место нарушение механизмов транспорта предшественников коллагена, в результате чего сборка молекулы коллагена осуществляется не экстраклеточно, а в цитоплазме гепатоцитов.

ЦНИИ гастроэнтерологии, Москва

Поступила 29/V 1987 г.

Ա. Ս. ԼՈԳԻՆՈՎ, Ե. Դ. ՄԱԿԱՐԵՎԱ, Վ. Վ. ՈՒԼՅԱՆՈՎԱ,
Վ. Դ. ՏԿԱՉԵՎ, Մ. Ա. ԹՈՒՄԱՆՅԱՆ

ԼՅԱՐԴԻ ՊԱԹՈԼՈԳԻԱՅԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ՆԵՐՔԶՋԱՅԻՆ ԿՈԼԱԳԵՆԸ
ՀԵՊԱՏՈՑԻՏՆԵՐԻ ՄԵՋ

Կյարդի բիլիար ջիրոզով 17 հիվանդների մոտ բիոպսիոն մատերիալի էլեկտրոնամանրադիտակային քննության ժամանակ հեպատոցիտների ջիրոպազմայում հայտնաբերվել են կոլագենային թելիկներ: Ապացուցված է որ կոլագենային թելիկների մոտակայքում բացակայում է թթու ֆոսֆատազի ակտիվութունը: Նմանօրինակ ֆիբրիլյար կառուցվածքներ հայտնաբերված են հեպատոցիտների մեջ և հարսինուտրոզային բջիջներում ջրկոհեքսամիդի ազդեցության ժամանակ առնետների լյարդի վրա: Ենթադրվում է լյարդի պաթոլոգիայի ժամանակ ներբջջային կոլագենի կուտակման հնարավորութուն:

A. S. LOGINOV, Ye. D. MAKARIEVA, V. V. ULYANOVA, V. D. TKACHEV,
M. A. TOUMANIAN

INTRACELLULAR COLLAGEN IN HEPATOCYTES IN CIRRHOSIS OF
THE LIVER

In electron microscopic investigations in hepatocytes of patients with initial biliar cirrhosis and in influence on the rat's liver with cycloheximide there have been revealed collagenic fibers. It is supposed that in case of the liver pathology the intracellular assembly of collagen is possible.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексеев А. В. Красильников В. А., Бойков П. Я., Тодоров И. Н. Биохимия, 1984, 49, 3, с. 455.
2. Логинов А. С., Дамянов Б. Д., Митин К. С. В кн.: Актуальные вопросы гастроэнтерологии, в. 7. М., 1974, с. 3.

3. Логинов А. С., Макарьева Е. Д., Ульянова В. В., Чебанов С. М. Цитология, 1984, 9, с. 1073.
4. Макарьева Е. Д., Чебанов С. М., Ульянова В. В., Баулина О. И. Там же, 1980, 4, с. 494.
5. Рынжак В. В. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1984, 4, с. 488.
6. Fahimi H. D. In: Techniques of biochemical and biophysical morphology, Wiley-Interscience, N. Y., 1975, 2, 197.
7. Feroldi J., Mallet-Gug Y. Arch. Anat., Cytol. Path., 1979, 27, 376.
8. Gross J. Harvey Lectures, 1974, 68, 351.
9. Hata P., Ninomiya Y., Naga Y., Tsuchida Y. Biochemistry, 1980, 19, 1, 169.
10. Hay E., Dodson J. J. Cell. Biol., 1973, 57, 190.
11. Pearlstein E., Gold L. J., Garcia-Pardo A. Molec. Cell. Biochem., 1980, 29, 103.
12. Szpak Ch. A., Woodard B. N. Ultrastr. Pathol., 1983, 4, 1, 101.
13. Tseng S. C. G., Smucker E. A., Stern R. Hepatology, 1983, 3, 955.

УДК 616.34—089.843—007.271

З. А. ТЕР-АВЕТИКЯН

БУЖИРОВАНИЕ ПРИ НЕПРОХОДИМОСТИ ИСКУССТВЕННОГО ПИЩЕВОДА В ЗОНЕ ПИЩЕВОДНО-ЖЕЛУДОЧНОГО И ПИЩЕВОДНО-КИШЕЧНОГО АНАСТОМОЗОВ

Работа посвящена сужению анастомозов после пластики пищевода. Описана методика консервативного лечения—бужирование рентгеноконтрастными полыми бужами по струне-проводнику и балонная дилатация. Подчеркивается эффективность указанного метода.

Наиболее частой причиной непроходимости искусственного пищевода является рубцовое сужение пищеводно-кишечного и пищеводно-желудочного анастомозов [2, 4, 5]. В зависимости от степени сужения лечебные мероприятия могут быть консервативными или оперативными. Среди консервативных методов лечения рубцовых стриктур пищеводных анастомозов важное место принадлежит бужированию. Однако бужирование обычными способами, даже под контролем эзофагоскопа, не получило распространения из-за возможности перфорации пищевода, а чаще трансплантата, так как направление движения бужа обычно не соответствует продольной оси трансплантата. Кроме того, сопротивление рубцовой ткани анастомоза при проведении бужа оказывается нередко значительно большим, чем сопротивление стенки трансплантата, что не позволяет хирургу в достаточной мере контролировать усилие, с которым буж проводится через суженный анастомоз.

С внедрением в клиническую практику разработанного в ВНЦХ АМН СССР [1] метода бужирования рентгеноконтрастными полыми бужами по стальной струне с пружинным проводником значительно расширились возможности неоперативного лечения рубцовых стриктур анастомоза пищевода с трансплантатом.

Мы располагаем опытом лечения бужированием рубцовых стриктур анастомоза пищевода (глотки) с трансплантатом у 29 больных, из коих 6—после повторной эзофагопластики (мужчин—18, женщин—11