

ОРГАНЕЛЛЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ТРАНСПОРТА В ЭНДОТЕЛИИ ЛИМФАТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКТОРОВ

Казакова Т.Е.¹, Сесорова И.С.²

¹Шуйский филиал ФГБОУ ВПО «Ивановский государственный университет», Шуя Ивановской области, Россия (155908, Ивановская область, г. Шуя, ул. Кооперативная, д. 24), e-mail: ttattyana@list.ru

²ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, Иваново, Россия (153012, г. Иваново, пр. Шереметевский, 8), e-mail: irina-s3@yandex.ru

В статье рассматривается ультраструктура эндотелиальных клеток межклапанного сегмента и створки клапана лимфатического коллектора на примере грудного протока кошки. Основным методом исследования является трансмиссионная электронная микроскопия. Толщина эндотелия варьирует в зависимости от места локализации среза: в ядерной зоне толщина клетки существенно больше, чем на периферических участках. Показано, что в обеих анализируемых зонах синтетический аппарат эндотелиальных клеток хорошо развит. Комплекс Гольджи ориентирован вдоль продольной оси клетки и характеризуется небольшим размером диктиосом. На поверхности плазматической мембраны клеток обнаружены многочисленные кавеолы. Описаны трансэндотелиальные каналы (или везикулярно-вакуолярная органеллы), которые в большей степени выражены в периферической зоне эндотелиальных клеток. В эндотелиальных клетках створок клапанов средняя объемная плотность везикул достоверно ниже, чем в клетках межклапанного сегмента.

Ключевые слова: лимфатический коллектор, эндотелиальная клетка, внутриклеточный транспорт.

ORGANELLES OF INTRACELLULAR TRANSPORT IN THE ENDOTHELIUM OF LYMPHATIC COLLECTORS

Kazakova T. E.¹, Sesorova I. S.²

¹ Shuya branch of Ivanovo State University, Shuya of Ivanovo region, Russia (155908, Ivanovo region, Shuya, street Kooperativnaya, 24), e-mail: ttattyana@list.ru

² Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, Russia (15301, Ivanovo, Sheremetevskiy avenue, 8), e-mail: irina-s3@yandex.ru

The article discusses the endothelial cells's ultrastructure of inter valve segment and valve leaflets of lymph collector illustrated by cats thoracic duct. The main research method is a transmission electron microscopy. The thickness of the endothelium varies depending on the localization cut: nuclear zone thickness of cells is substantially greater than in the peripheral areas. It is shown that in both analyzed areas synthetic apparatus of endothelial cells is well developed. Golgi complex is oriented along the longitudinal axis of the cell and is characterized by small size dictyosomes. On the surface of the plasma membrane of cells found numerous caveolae. Described transendothelial channels (or vesicular-vacuolar organelles) that are more pronounced in the peripheral zone of endothelial cells. In the endothelial cells of valve leaflets average bulk density of the vesicles is significantly lower than in cells inter valve segment.

Keywords: lymphatic collector, endothelial cell, intracellular transport.

Эндотелий – пограничный клеточный монослой, обеспечивающий нормальное функционирование сосудистой стенки. В настоящее время широко признается как морфологическая, так и функциональная неоднородность эндотелия вдоль сосудистого русла, отражающая биологическое приспособление как отдельных клеток, так и монослоя к местным потребностям. Несмотря на то, что общее строение, механизмы транспорта и другие признаки в эндотелиальных клетках разных сосудов подчиняются общим принципам организации, существуют уникальные особенности организации эндотелиального монослоя

и ультраструктурной организации клеток, которые могут быть продемонстрированы в разных отделах сосудистой системы.

Эндотелий лимфатических коллекторов является пограничным клеточным слоем с многочисленными функциями, большинство которых обеспечивается секретлируемой клетками продукцией. Однако, несмотря на количество и роль синтезируемых эндотелиальной клеткой (ЭК) продуктов (проколлаген III, IV типов, ламинин, энтактинс, фибрилин, фибронектин, гепарин, сульфатпротеогликан, интегрин и ряд других [8]), участвующих в многочисленных механизмах, в том числе в регуляции сократительной активности лимфангионов, клеточной проницаемости, в обеспечении лимфы антикоагулянтными и антифибринолитическими факторами и прочее, большинство исследователей указывают на «бедность» ЭК магистральных лимфатических сосудов органеллами, вовлеченными в биосинтетические процессы [1]. Поэтому данные морфологической организации внутриклеточного транспорта в ЭК лимфатических коллекторов немногочисленны и не дают объективного представления о механизмах секреции, эндо- и экзоцитоза, трансцитоза и других. Тем не менее понимание механизмов внутриклеточного транспорта поможет в решении практических задач профилактики и лечения заболеваний, связанных с изменением функций лимфатических коллекторов.

Цель исследования

Изучить органеллы внутриклеточного транспорта в эндотелиальных клетках грудного протока в области межклапанного сегмента и створки клапана.

Методы исследования

Ультраструктурная организация внутриклеточного транспорта эндотелиальных клеток лимфатических коллекторов изучалась на грудном протоке (ГП) кошки с помощью просвечивающей электронной микроскопии. Для морфологических исследований применялась стандартная процедура перфузионной фиксации. Под нембуталовым наркозом производили обнажение *cisterna chyli*, затем канюлировали, отмывали от лимфы путем перфузии средой 199 под среднефизиологическим давлением, затем перфузировали 5 минут 2,5 % раствором глутарового альдегида на среде 199, иссекали ГП и фиксировали глутаровым альдегидом не менее суток. Затем участки ГП постфиксировали в 1 % растворе OsO_4 , заливали в аралдит и готовили ультратонкие срезы на ультратоме ДКВ-III (Швеция), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, срезы просматривали в электронном микроскопе ЭМВ-100 АК (НПО "Электрон", Украина). Анализировалось не менее 30 клеток в области межклапанного сегмента и створки клапана.

Результаты исследования и их обсуждение

Структурно-функциональное разнообразие эндотелиальных клеток, как предполагается, является результатом молекулярных различий между эндотелием разных клеточных популяций [4] и устанавливаются до наступления кровообращения генетическими механизмами во время эмбрионального развития [4]. Лимфатические коллекторы, в отличие от артерий и вен, несут лимфу под низким давлением, имеют тоньше мышечную оболочку и обладают специализированными структурами, такие как клапаны, обеспечивающими поток лимфы в одном направлении. Клапаны делят лимфатический сосуд на сегменты «лимфангионы», поэтому в разных зонах лимфангиона формируются разные лимфодинамические условия, оказывающие влияние на морфологию ЭК [3]. Поэтому популяция ЭК коллектора не однородна. ЭК межклапанного сегмента уплощены, вытянуты, ядродержащие зоны сглажены. Толщина эндотелия варьирует в зависимости от места локализации среза от 1–2 мкм в ядерной зоне, до 80 нм в периферических участках клетки. Напротив, в эндотелиальных клетках створок клапанов ядродержащая зона сильно выступает на фоне уплощенной внеядерной зоны и может достигать от $2,8+0,86$ мкм высотой.

В ЭК лимфатических коллекторов органеллы секреторного пути выявляются на срезах как в перинуклеарной, так периферической зонах клетки. Однако в связи с маленькой высотой периферической зоны и направлением секреции продуктов синтеза, мешочки диктиосом нумеруемого Гольджи (КГ) располагаются вдоль продольной оси клетки. Поэтому часто на срезах органелла представлена в виде скопления пузырьков, некоторые из которых покрыты белковой каймой. Еще одной особенностью КГ являются небольшие размеры и «компактность» диктиосом. Мешочки КГ небольшие, в среднем $466,1+45,6$ нм длиной, причем в одной диктиосоме все мешочки по длине одинаковые. Просвет мешочков узкий в центральной части – 20-30 нм и расширяется латерально. Чаще всего стопка состоит из четырех или трех мешочков, и совсем редко из пяти (в среднем $4,2+0,27$). Подобная закономерность встречается в фибробластах, где в отростках клеток стопки короче и состоят из 3–4 мешочков, а в околоядерной зоне их длина и количество увеличивается на 1–2 цистерны. На латеральном крае стопки, чаще всего в ее средней части, регистрируются немногочисленные 50–60 нм свободные везикулярные профили – СОPI-везикулы.

Большинство секретируемых ЭК молекул синтезируется в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР). Затем «экспортные» продукты секреции концентрируются в определенном месте цистерны ЭР, так называемом выходном сайте. Так, между ЭР и первой цистерной КГ мы регистрируются скопления везикулярных и трубчатых мембранных профилей, на которых может наблюдаться электронно-плотная кайма, характерная для СОPII покрытия.

Через КГ транспортируются и модифицируются по мере прохождения через мешочки органеллы белки, разные по размерам и химическим свойствам, которые будут упаковываться в разные морфологические структуры. На транс-полусе стопки мы наблюдаем скопление варикозных мембранных профилей, мешковидных и округлых мембранных структур разных форм, размеров и электронной плотности. Среди этих структур выявляются округлые структуры средней электронной плотности, диаметром от 200–300 нм, внутри которых расположены 5–7 круглых профиля, диаметром 25 нм. Мы идентифицируем данные структуры тельцами Вейбеля – Паладе [10]. В них кроме основного транспортируемого белка – фактора Вилибранта может находиться целый ряд мембраносвязанных белков: интерлейкин-8, эндотелин-1, эотаксин-3, р-селектин, тканевой активатор плазминогена, тетраспарин и ряд других [7]. Кроме того, часть округлых мембранных профилей покрыты клатрином.

Мы находим сходство мешкообразных расширений, заполненных не однородным веществом средней электронной плотности, с аналогичными структурами КГ фибробластов, в которых, как было показано иммуногистохимически, транспортируются проколлагеновые агрегаты [2].

Эндотелиальные клетки играют ключевую роль в транспортировке молекул через сосудистую стенку. Одним из возможных путей молекулярного переноса является межклеточный перенос с помощью кавеол, а также межклеточных каналов [8].

Кавеолы – специфические транспортные структуры, маркером и основным компонентом которых является интегральный мембранный белок кавеолин-1 [9], определяющий характерный рельеф кавеолы. В ЭК лимфатических коллекторов кавеолы имеют вид мелких (60 нм в диаметре) мембранных почеч, прикрепленных к плазматической мембране. Кавеолы могут сливаться и образовывать «гроздь». Почти все кавеолы оказываются связанными с плазматической мембраной. Характерной особенностью кавеол является отсутствие области сужения – «шейки». Этот факт затрудняет объяснение молекулярного механизма отщепления кавеол, если такой существует. Не известны также механизмы, обеспечивающие транспорт от одной мембраны к другой. Кроме того, показано, что частота встречаемости кавеол не коррелирует с коэффициентом тканевой проницаемости [8]. Тем не менее сообщается о присутствии в кавеолах специфических рецепторов для трансферина, инсулина, альбумина, церулоплазмина, транскобаломина и других молекул. Таким образом, роль кавеол в механизмах транспорта в ЭК остается неясной. Одна из последних гипотез предполагает, что кавеолы взаимодействуют с другими белками покрытий и превращаются в клатрин-покрытую везикулу [6].

Трансэндотелиальный канал – цепочки из связанных между собой везикул, переменных размеров, расположенные от одной мембраны ЭК до другой [5]. Считается, что трансэндотелиальные каналы (или везикулярно-вакуолярная органелла) участвуют в регулируемом транспорте растворимых макромолекул [5]. Однако они редко бывают непрерывными [5]. В периферических отделах ЭК количество везикул больше. Средняя объемная плотность везикул в ЭК межклапанного сегмента $13,73 \pm 1,33$. Из них, связанные с базальной плазмолеммой в среднем 31,15 %, люминальной – 32,46 %. Остальные – 46,39 % расположены свободно в цитоплазме. В ЭК створок клапанов средняя объемная плотность везикул достоверно ниже, чем в клетках межклапанного сегмента.

Заключение

Таким образом, хорошо развитые структуры секреторного аппарата, многочисленные везикулы, кавелолы и другие, обеспечивающие транспорт, доказывают активное участие эндотелия лимфатических коллекторов в регуляции нормального функционирования сосудистой стенки и всего коллектора и не только ЭК межклапанного сегмента, но и створок клапанов.

Список литературы

1. Банных С. И. Клапанный аппарат и тканевая организация эндотелия грудного протока / И. С. Сесорова, А. А. Миронов мл., В. А. Миронов, В. К. Шишло, В. А. Колпаков, А. А. Миронов // Морфология. – 1996. – Т. 109, № 1. – С. 40–50.
2. Сесорова И. С. Морфофункциональный анализ строения комплекса Гольджи фибробластов животных / И. С. Сесорова // Морфология. – 2010. – Т. 137, № 4. – С. 173.
3. Сесорова, И. С. Оценка состояния эндотелиального монослоя после реэндотелизации участка криоповреждения грудного протока / И. С. Сесорова, Т. В. Лазоренко // Морфология. – 2009. – Т. 136, № 6. – С. 57–61.
4. Cao G. Angiogenesis in platelet endothelial cell adhesion molecule-1-null mice / G. Cao, M. L. Fehrenbach, J. T. Williams, J. M. Finklestein, J. X. Zhu, H. M. Delisser // Am. J. Pathol. – 2009. – 175(2). – P. 903–915.
5. Feng D. Ultrastructural studies define soluble macromolecular, particulate, and cellular transendothelial cell pathways in venules, lymphatic vessels, and tumor-associated microvessels in man and animals / D. Feng, J. A. Nagy, H. F. Dvorak, A. M. Dvorak // Microsc. Res. Tech. – 2002. – 57(5). – P. 289–326.

6. Hayer A. Caveolin-1 is ubiquitinated and targeted to intraluminal vesicles in endolysosomes for degradation / A. Hayer, M. Stoeber, D. Ritz, S. Engel, H. H. Meyer, A. Helenius // *J. Cell Biol.* – 2010. – 191(3). – P. 615–629.
7. Metcalf D. J. Formation and function of Weibel-Palade bodies / D. J. Metcalf, T. D. Nightingale, H. L. Zenner, W. W. Liu, Roberts, D. F. Cutler // *J. Cell Sci.* – 2008. – 121. – P. 19–27.
8. Simionescu M. Transcytosis of plasma macromolecules in endothelial cells: a cell biological survey / M. Simionescu, A. Gafencu, F. Antohe. *Microsc // Res. Tech.* – 2002. – 57(5) – P. 269–288.
9. Stan R. V. Endothelial stomatal and fenestral diaphragms in normal vessels and angiogenesis / R. V. Stan // *J. Cell Mol. Med.* – 2007. – 11(4). – P. 621–643.
10. Valentijn J. A. Actin coating of secretory granules during regulated exocytosis correlates with the release of rab3D. / J. A. Valentijn, K. Valentijn, L. M. Pastore, J. D. Jamieson // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – 97(3). – P. 1091–1095.

Рецензенты:

Катаев С.И., д.м.н., профессор кафедры анатомии ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Иваново;
Клетикова Л.В., д.б.н., профессор кафедры акушерства, хирургии и незаразных болезней ФГБОУ ВПО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. акад. Д.К. Беляева», г. Иваново.