

КЛИНИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ: ГЕПАТОЦИТЫ, ЭНДОМЕМБРАННАЯ СИСТЕМА

В. М. Цыркунов (tvm111@mail.ru), В. П. Андреев (vpandreev@mail.ru), Р. И. Кравчук (kravchuk@mail.ru)

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Введение. Одним из основных структурно-функциональных элементов гепатоцитов, обеспечивающих полноценное функционирование систем организма, является эндомембранная система цитоплазмы (ЭМСЦ), представленная эндоплазматическим ретикулумом, комплексом Гольджи, лизосомами и другими органеллами. В клинической практике визуализация компонентов ЭМСЦ при хроническом гепатите С (ХГС) представлена недостаточно.

Цель исследования – представить морфологические характеристики ЭМСЦ гепатоцитов при вирусных поражениях печени.

Материалы и методы. Биоптаты печени получены путем проведения аспирационной биопсии печени у 18 пациентов с ХГС и ко-инфекцией ХГС/ВИЧ, от которых имелось письменное информированное согласие. Для описания морфологических изменений в биоптатах печени использованы методы световой микроскопии полутонких срезов по усовершенствованной методике фиксации и электронной микроскопии ультратонких срезов. Для получения снимков использовался комплекс из цифровой камеры Olympus Mega View III (Германия) и программы для обработки изображений iTEM (Olympus, Германия).

Результаты. Представлена подробная описательная и визуализационная характеристика особенностей строения всех компонентов ЭМСЦ: шероховатой и гладкой эндоплазматической сети, аппарата Гольджи, лизосом и пероксисом при ХГС и ко-инфекции HCV/ВИЧ. Особое внимание уделено визуализации структур ЭМСЦ, ответственных за репликацию HCV в условиях ко-инфекции. Представлены фотографии первичных и вторичных лизосом, особенности строения гетеролизосом, аутолизосом, телолизосом, пероксисом.

Заключение. Морфологическая характеристика изменений в ЭМСЦ гепатоцитов наиболее точно представлена при визуализации всех компонентов ЭМСЦ методом электронной микроскопии. Визуализация вирус-индуцированных мембранных изменений ЭМСЦ гепатоцитов раскрывает особенности цитопатических эффектов HCV и ко-инфицирования HCV+HIV на разные структуры ЭМСЦ гепатоцитов, ответственные за процессы детоксикации, метаболизма и репликации гепатотропных вирусов. Изменения во всех структурах ЭМСЦ гепатоцитов не носят изолированный характер, характеризуются комплексом специфических ультраструктурных признаков, ассоциированных друг с другом и объединенных апоптозогенным механизмом патогенеза HCV-инфекции. Необходимы дальнейшие исследования по уточнению роли HCV/HIV в формировании репликационных «азеродромов» и «фабрик», разработке методов их идентификации с целью раскрытия новых механизмов прогрессирования HCV-инфекции и трансформации инфекционного процесса в фиброгенный и онкогенный процессы.

Ключевые слова: морфология печени, гепатоциты, эндомембранная система

Для цитирования: Цыркунов, В. М. Клиническая морфология печени: гепатоциты, эндомембранная система / В. М. Цыркунов, В. П. Андреев, Р. И. Кравчук // Гепатология и Гастроэнтерология. 2019. Т. 3, № 1. С. 28-42. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2019-3-1-28-42>

CLINICAL MORPHOLOGY OF THE LIVER: HEPATOCYTES, ENDOMEMBRANE SYSTEM

V. M. Tsyerkunov (tvm111@mail.ru), V. P. Andreev (vpandreev@mail.ru), R. I. Kravchuk (kravchuk@mail.ru)

Educational institution «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

Background. One of the main structural and functional elements of hepatocytes ensuring the proper functioning of the body's systems is the endomembrane cytoplasm system (EMMS) represented by the endoplasmic reticulum, Golgi complex, lysosomes and other organelles. In clinical practice, EMMS components imaging in chronic hepatitis C (CHC) is insufficiently presented.

Objective of the study is to present the morphological characteristics of the EMMS of hepatocytes in viral lesions of the liver.

Materials and methods. Liver biopsies were obtained using fine-needle aspiration biopsy from 18 patients (having given written informed consent) with chronic hepatitis C and co-infection of chronic hepatitis C and HIV. The morphological changes in liver biopsy specimens were described using light microscopy of semi-thin sections based on the improved method of fixation and electron microscopy of ultrathin sections. The pictures were taken with the help of a set from Olympus Mega View III digital camera (Germany) and the iTEM image processing software (Olympus, Germany).

Results. Detailed descriptive and imaging characteristics of the structural features of all components of the EMMS: the rough and smooth endoplasmic reticulum, the Golgi apparatus, lysosomes and peroxisome in CHC and HCV /

HIV co-infection are presented. Particular attention is paid to the imaging of the EMMS structures responsible for the replication of HCV in case of co-infection. The pictures of primary and secondary lysosomes, structural features of heterolysosomes, autolysosomes, telolysosomes, peroxisomes are presented.

Conclusion. The morphological characteristics of changes in the EMMS of hepatocytes are most accurately presented by the imaging of all components of the EMMS using electron microscopy. The imaging of virus-induced membrane changes in the EMMS of hepatocytes reveals the peculiarities of cytopathic effects of HCV and the co-infection of HCV + HIV on various structures of the EMMS of hepatocytes responsible for the processes of detoxification, metabolism and replication of hepatotropic viruses. Changes in all structures of the EMMS of hepatocytes are not isolated, but characterized by a set of specific ultrastructural signs interrelated with each other and united by the apoptogenic mechanism of the pathogenesis of HCV infection. Further research is needed to clarify the role of HCV / HIV in the formation of replication "airfields" and "factories", to develop methods for their identification in order to uncover new mechanisms for the progression of HCV infection and the transformation of the infectious process into fibrogenic and oncogenic ones.

Keywords: liver morphology, hepatocytes, endomembrane system

For citation: Tsyrunov VM, Andreev VP, Kravchuk RI. Clinical morphology of the liver: hepatocytes, endomembrane system. *Hepatology and Gastroenterology*. 2019;3(1):28-42. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2019-3-1-28-42>

Введение

Гепатоциты – основные клетки паренхиматозного компартмента печени, обеспечивающего жизненно важные функции организма: синтез (накопление и выделение в кровь) и хранение белков, трансформацию углеводов, синтез холестерина, желчных солей и фосфолипидов, детоксикацию, модификацию, выведение из организма эндогенных субстанций, инициирование процесса желчеобразования и другие [1, 2]. Гепатоциты, являясь стабильными клетками из-за ограниченного числа делений при регенерации повреждений печени, обладают интенсивным и высокоспециализированным клеточным метаболизмом, содержат специфические ферменты, отсутствующие в других тканях и органах организма [3].

Одним из основных структурно-функциональных элементов гепатоцитов является эндомембранная система цитоплазмы (ЭМСЦ, старое название – вакуолярно-канальцевая система) гепатоцитов, образованная сообщающимися или располагающимися по отдельности трубка-

тыми (канальцы, тубулы), а также уплощенными (цистерны) полостями, ограниченными мембранами. В гепатоцитах ЭМСЦ представляют: эндоплазматический ретикулум (ЭР, ER), открытый К. Портером (1945) в виде шероховатой или гранулярной (ГрЭС, rER) и гладкой (ГлЭС, sER) эндоплазматической сети, комплекс Гольджи (КГ), лизосомы и пероксисомы (рис. 1) [4].

ЭМСЦ также включает везикулы, обеспечивающие внутриклеточный транспорт, экзоцитоз (выведение) и эндоцитоз (поглощение) веществ, частиц и микроорганизмов (рис. 2). Органеллы ЭМСЦ гепатоцитов имеют границы, образованные избирательно проницаемыми мембранами, отличающимися по своим свойствам как от плазматической мембраны, так и друг от друга. Пере-

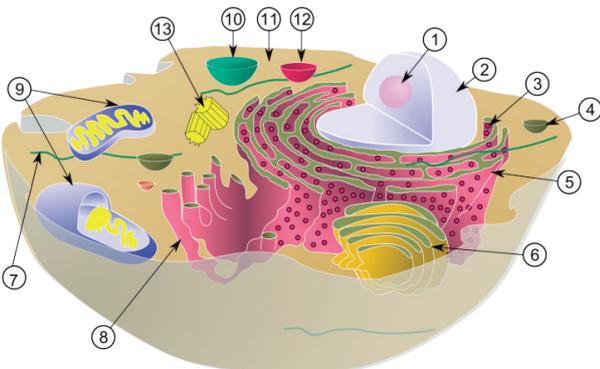


Рисунок 1. – Схема ЭМСЦ в типичной животной клетке: ядрышко (1), ядро (2), рибосомы (маленькие точки, 3), везикула (4), ГрЭС (5), КГ (6), цитоскелет (7), ГлЭС (8), митохондрии (9), вакуоль (10), цитоплазма (11), лизосома (12), центриоль и центросома (13) [5].

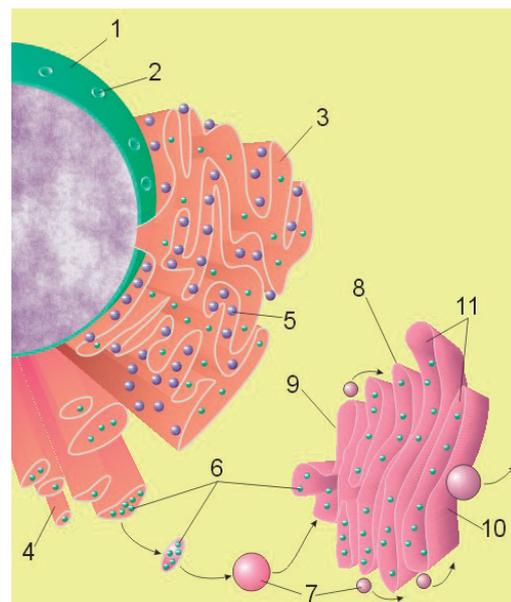


Рисунок 2. – Схема клеточного ядра, эндоплазматической сети и комплекса Гольджи: ядро (1), поры ядерной мембраны (2), ГрЭС (3), ГлЭС (4), рибосомы на поверхности ГрЭС (5), макромолекулы (6), транспортные везикулы (7), КГ Гольджи (8), цис-КГ (9), транс-КГ (10), цистерны КГ (11) [5].

численные органеллы выполняют специализированные функции, определяемые уникальным набором ферментов, локализованных в самой мембране и внутреннем пространстве, которое она обрамляет. Все мембранные органеллы окружены немембранным компартментом – цитозолем, в котором происходит значительная часть реакций промежуточного обмена и синтез белка на свободных рибосомах [6].

Многие вирусы, включая вирус гепатита С (HCV, ВГС), интенсивно используют органеллы гепатоцита для проникновения, перемещения, репликации генома и других биосинтетических процессов, а также отпочковывания. Белки ВГС обнаруживают в митохондриях, ГрЭС и ГлЭС, КГ, липидных капельках и аутофагоцитарных вакуолях. В ЭР они индуцируют образование мембранно-связанных репликационных комплексов, приводящих к структурным изменениям клеточной архитектуры гепатоцита, представляющим собой цитопатологию, способную завершиться разрушением клеток [7, 8, 9].

Литературы по вопросам визуализации всех структур ЭМСЦ гепатоцитов у пациентов с HCV-инфекцией недостаточно, в связи с чем была поставлена задача: изучить субклеточное распределение и морфологию ремоделированной HCV ЭМСЦ.

Цель исследования – представить морфологические характеристики ремоделированной ЭМСЦ гепатоцитов при HCV-инфекции.

Материалы и методы

Объектом исследования были биоптаты 18 пациентов с хронической HCV-инфекцией, полученные после подписания ими информированного согласия.

Электронную микроскопию проводили в биоптатах печени (0,5×1,0 мм), фиксированных 1% раствором четырехоксида осмия на 0,1M буфере Миллоница, pH 7,4, при +40С в течение 2 часов [10]. После дегидратации в спиртах восходящей концентрации и ацетоне образцы заливали в аралдит [11, 12]. Из полученных блоков на ультрамикротоме Leica EM VC7 (Германия) готовили полутонкие срезы (400 нм) и окрашивали метиленовым синим. Препараты просматривали в световом микроскопе и выбирали однотипный участок для дальнейшего изучения ультраструктурных изменений. Ультратонкие срезы (35 нм) контрастировали 2% раствором уранилацетата на 50% метаноле [13] и цитратом свинца (по E. S. Reynolds) [14]. Препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония) при увеличениях 10000-60000 при ускоряющем напряжении 80 кВт. Для получения снимков использовали цифровую камеру Olympus Mega View III с программой iTEM для обработки изображений (Olympus, Германия).

Результаты и обсуждение

Наше исследование показало, что степень повреждения и относительное количество изменений ЭМСЦ в гепатоцитах, пораженных ВГС, значительно варьировало от незначительных до катастрофических изменений, несовместимых с жизнедеятельностью клетки. ЭМСЦ гепатоцитов визуализировалась в виде уплотненных мешотчатых полостей и ветвящихся трубочек, мембраны которых составляли более половины общего количества мембран клетки. Основными представителями ЭМСЦ были две морфологически и функционально разные структуры ЭР: ГрЭС, усеянная рибосомами, и ГлЭС, являющаяся продолжением той же мембраны, но без рибосом.

Гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС). ГрЭС визуализировалась в виде совокупности плоских цистерн, вакуолей и извитых трубочек с небольшим просветом, заполняющих незначительную часть цитоплазмы гепатоцитов печени (рис. 3, 4).

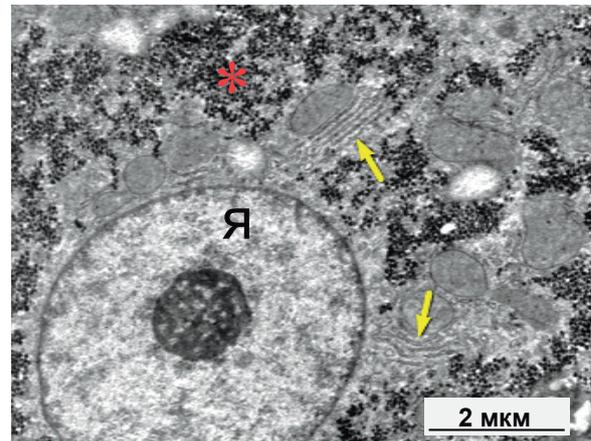


Рисунок 3. – Цистерны ГрЭС, заполняющие незначительную часть цитоплазмы гепатоцита (стрелки). Тесный контакт ГрЭС с митохондриями. Кластер гранул гликогена обозначен звездочкой; «Я» – ядро гепатоцита

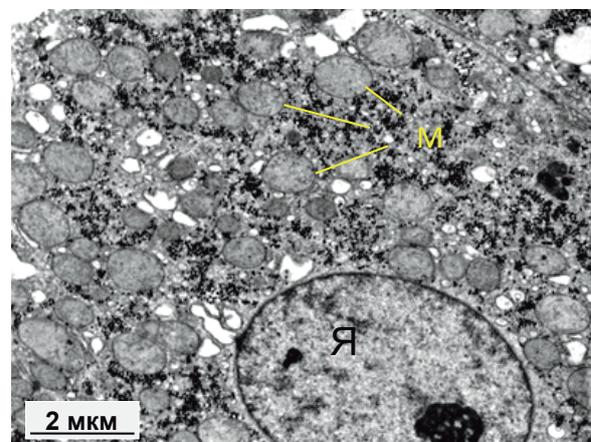


Рисунок 4. – Отсутствие цистерн ГрЭС на большей части гепатоцита. Многочисленные митохондрии «М» с поврежденными кристами обозначены желтыми стрелками; «Я» – ядро гепатоцита

В просвете цистерн ГрЭС начинается модификация белков – связь их с углеводами или иными компонентами. Синтезируемая на рибосоме пептидная цепь проникает своим лидерным концом через мембрану в полость ГрЭС, где формируется третичная структура белка.

При ХГС закономерно наблюдалась тенденция в редукции ГрЭС, вплоть до парциального или полного исчезновения цистерн, сопровождающаяся снижением количества и, нередко, полной утратой рибосом на цистернах (рис. 5А, 5Б).

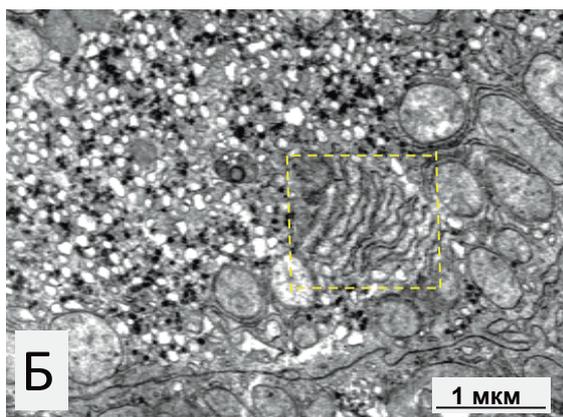
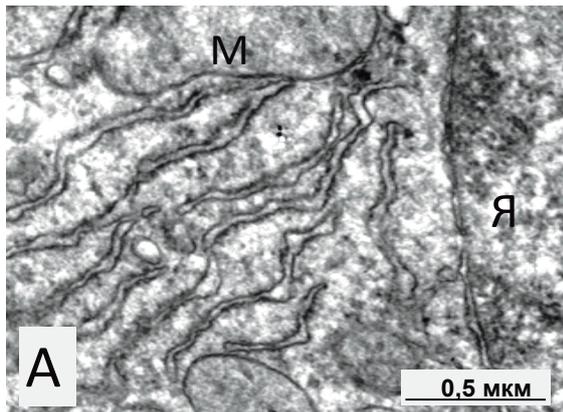


Рисунок 5. – Изменение структуры ГрЭС при ХГС: 5А – почти полная утрата рибосом на расширенных (неправильной формы) цистернах ГрЭС, расположенных вблизи ядра. 5Б – лишённые рибосом цистерны ГрЭС (в рамке), расположенные на периферии гепатоцита вблизи базолатеральной мембраны

Накопление гранул гликогена в гепатоцитах – это морфологический признак, характеризующий переход клетки от окислительного фосфорилирования к гликолитическому способу получения энергии, возникающему при повреждении митохондрий (рис. 6) [15].

В инфицированных HCV гепатоцитах выявлено превращение ГрЭС в вакуоли разной величины и несколько морфологически разнородных типов везикул, генез которых связан с изменением ГрЭС (рис. 6, 7).

Установлено, что при высокой вирусной нагрузке HCV количество цистерн ГрЭС резко уменьшается. По мнению ряда авторов, одна из

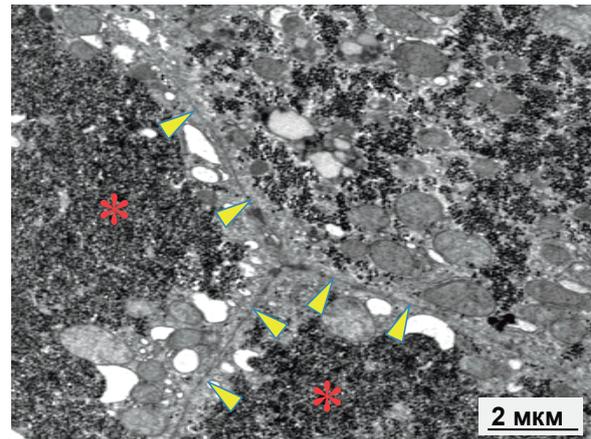


Рисунок 6. – Фрагменты трех гепатоцитов (их границы обозначены наконечниками стрелок), в цитоплазме двух из них (слева и внизу) видны разрастающиеся «поля» гликогена (звездочки), оттесняющие на периферию органеллы клетки.

причин этого изменения – развитие клеточно-инволютивной дистрофии, при которой гепатоцит теряет значительную часть мембран ГрЭС («санация» гепатоцита), на которых происходит репликация HCV и нарушаются механизмы апоптоза, препятствующие элиминации вируса (рис. 9,10) [16, 17].

Лишь в отдельных гепатоцитах выявлялись участки с параллельно ориентированными цистернами ГрЭС с расположенными на них рибосомами – морфологическое выражение синтеза белка в просвет цистерн эндоплазматической сети (рис. 11, 12).

В геноме ВГС, представленном одноцепочечной молекулой РНК с положительным смыслом (плюс-РНК), закодирована молекула полипротеина, который после трансляции РНК на рибосомах подвергается посттрансляционному расщеплению вирусными и клеточными протеазами на 10 структурных (коровый, белки оболочки E1 и E2) и неструктурных (P7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) белков, участвующих в регуляции и нарушении клеточных функций, репликации и сборки HCV (рис. 13).

Неструктурные белки также участвуют в жизненном цикле HCV: прикрепление вируса, проникновение, трансляция РНК, посттрансляционный процессинг, репликация, сборка и высвобождение HCV [17-19].

Увеличение неструктурных белков вызывает стресс ЭР, блеббинг мембран (формирование везикул, отрыв от мембраны) и их фокальную дилатацию. Белки NS3, NS4A, NS4B, NS5A и NS5B образуют вирусный комплекс репликации на мембранах ЭР, участвуют в нарушении редокс-баланса и изменении уровней антиоксидантных ферментов [6, 7, 8, 18].

HCV индуцирует в гепатоцитах перегруппировку внутриклеточных мембран ГрЭС для создания в цитоплазме благоприятных условий для

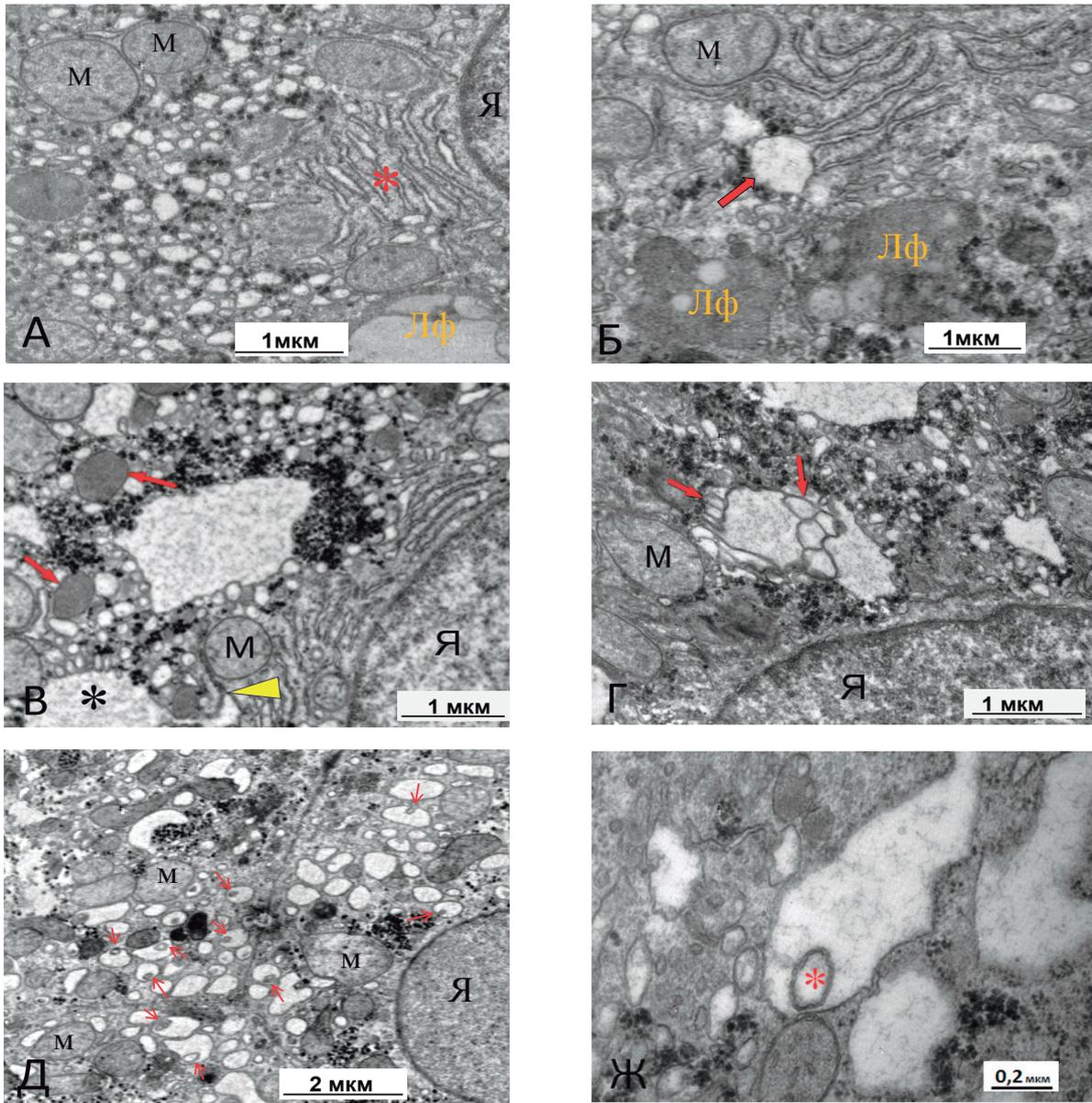


Рисунок 7. – Морфологические изменения ГрЭС при ХГС: А – расширение цистерн ГрЭС (красная звездочка) в гепатоците: в левой части видны многочисленные одномембранные везикулы различной величины и формы; М – митохондрии; Я – ядро; Лф – липофусцин; Б – фокально расширенный участок цистерны ГрЭС (красная стрелка); М – митохондрия, Лф – липофусцин; В – образование крупной везикулы из цистерны ГрЭС (место перехода обозначено наконечником стрелки). М – митохондрии; красные стрелки – пероксисомы; Г – смежные везикулы (обозначены стрелкой), окружающие крупные вакуоли; Д – фрагменты цитоплазмы трех гепатоцитов: кластеры крупных везикул (красные стрелки) с внутренними инвагинациями «traffic vesicles» (красные стрелки); Ж – двумембранная везикула (красная звездочка) в просвете крупной вакуоли.

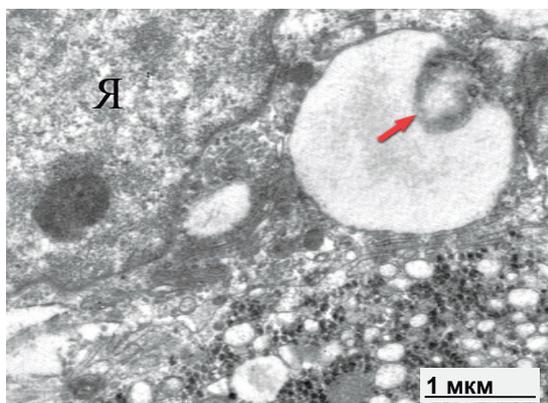


Рисунок 8. – Одномембранная везикула с внутренней инвагинацией (красная стрелка) при большем увеличении

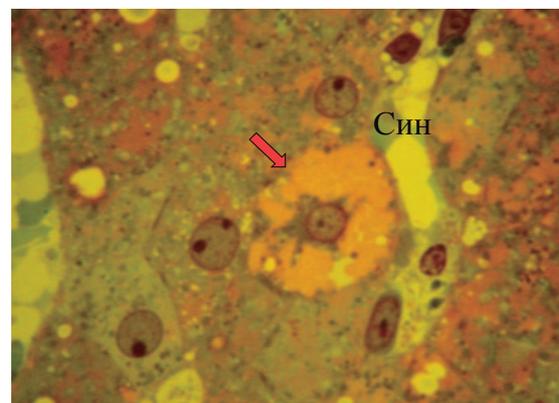


Рисунок 9. – Тотальное опустошение цитоплазмы гепатоцита (красная стрелка), Син – синусоид. Полутонкий срез. Окраска: азур II, основной фуксин. ×1000

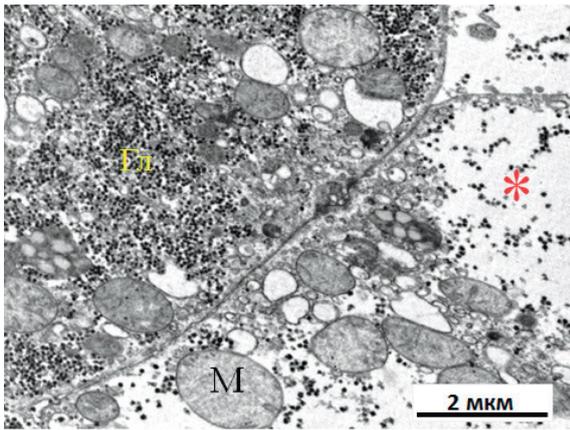


Рисунок 10. – Фрагменты цитоплазмы двух гепатоцитов. В цитоплазме гепатоцита, расположенного справа, виден участок (красная звездочка), в котором отсутствуют органеллы и находятся только разрозненные гранулы гликогена (Гл), вокруг звездочки; М – митохондрия

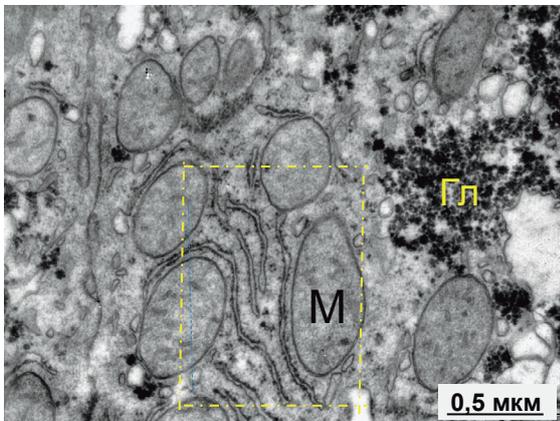


Рисунок 11. – Цистерны ГрЭС (в рамке) с правильно ориентированными мембранами, усеянные рибосомами. Наличие в цитоплазме гепатоцита крупных вакуолей и значительного количества гликогена (Гл) косвенно свидетельствует о возможной трансляции вирусной РНК на рибосомах. «М» – митохондрия

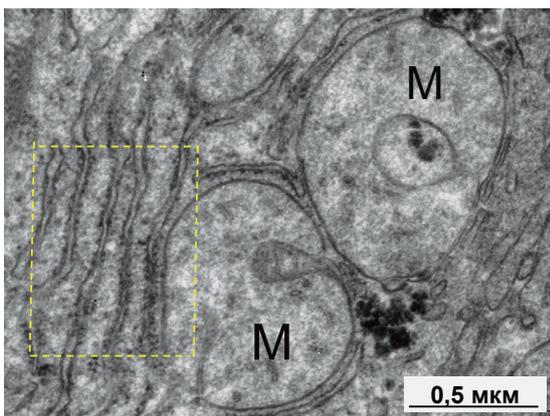


Рисунок 12. – Тесный контакт цистерн ГрЭС (в рамке) с митохондриями (М), ультраструктура которых (разрушение структуры крист и наличие инвагинации мембран) указывает на нарушение их деления

Недавно было обнаружено, что для создания мембранного полотна требуется согласованное действие NS3/4A, NS4B, NS5A и NS5B [19]. Установлено, что неструктурные белки ВГС (NS3 и

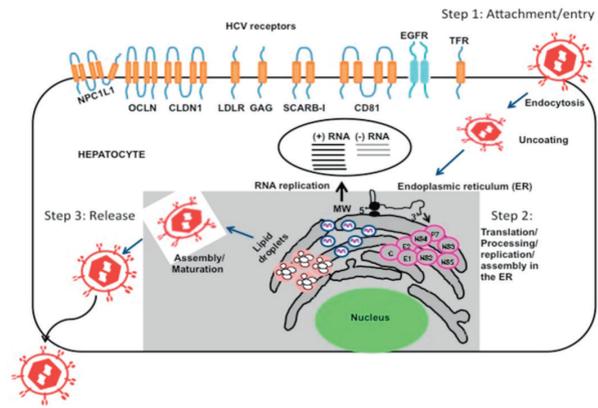


Рисунок 13. – Цикл развития ВГС [18].

репликации РНК в виде мембранного микроокружения, называемого мембранным полотном (рис. 14).

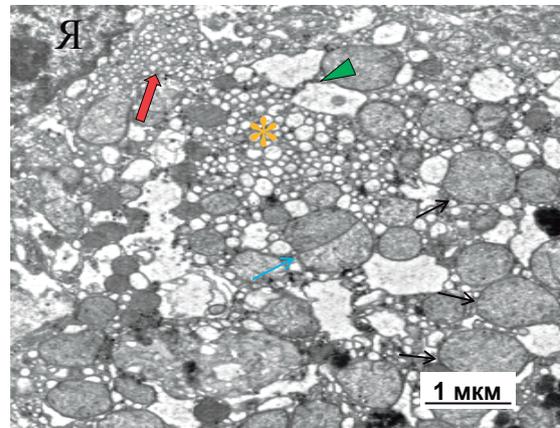


Рисунок 14. – Одномембранное мелковезикулярное полотно (красная стрелка), непрерывно переходящее в сеть с более крупными везикулами (желтая звездочка), окруженное по периферии расширенными вакуолями неправильной формы (зеленый наконечник стрелки); делящаяся МХ (голубая стрелка), неделящаяся МХ (черные стрелки); ядро гепатоцита (Я).

NS4A) индуцируют образование больших количеств гладких одиночных везикул, представляющих единое мелковезикулярное полотно (рисунок 14), которое ассоциируется с самым ранним этапом репликации ВГС, а саму структуру называют «репликационной фабрикой» ВГС (рисунок 15) [20].

Мелковезикулярное полотно представляет своеобразный рецепторный «аэродром» (репликативную «фабрику») в виде ремоделированных мембран на которых происходит репликация HCV. Ремоделированные мембраны представляют собой цитоплазматические накопления одно-, двух- и мультимембранных везикул в инфицированных HCV клетках [22, 23, 24]. Формирование таких репликационных органелл опосредуется сложным взаимодействием факторов клетки-хозяина и вирусных репликативных белков.

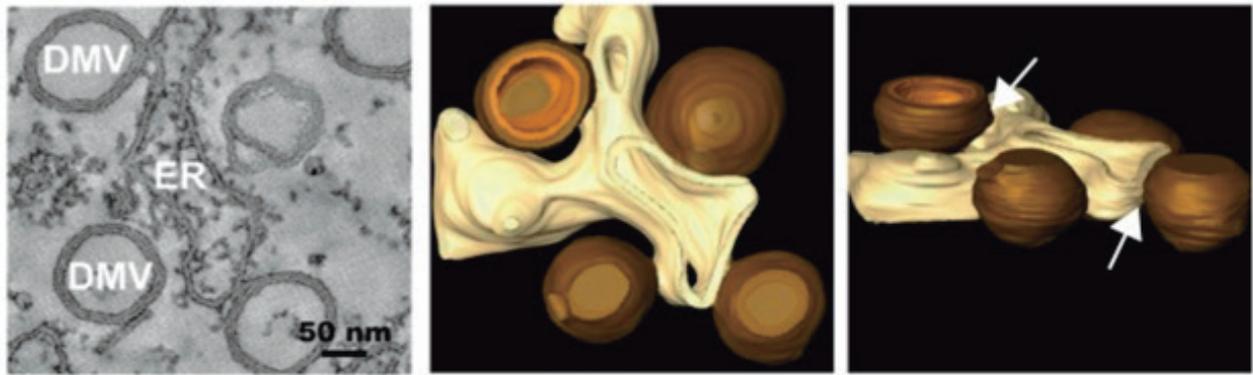


Рисунок 15. – Структура и схема репликативной «фабрики» HCV: DMV – двойные мембранные везикулы; темно-коричневый цвет DMV – наружная мембрана DMV, светло-коричневый цвет – внутренняя мембрана DMV; ER – эндоплазматический ретикулум (желтый цвет), белые стрелки – места (поры) контактов ЭР с мембранами везикул [21]

Из литературных источников известно, что в печени ВГС-инфицированных пациентов, зараженные гепатоциты встречаются в виде кластеров, что косвенно указывает на преобладающую возможность межклеточной передачи ВГС. Механизм такой передачи не известен, но предположительно считают, что этот процесс может осуществляться посредством экзосом, с заключенной в них вирусной РНК. Можно также предположить, что передача вирусной РНК между соседними гепатоцитами может происходить и в местах разрушения плазматической мембраны, что нередко наблюдается в инфицированных гепатоцитах (рис. 16, 17).

Считают, что мембранные структуры выполняют несколько задач: координация разных этапов жизненного цикла ВГС путем пространственной сегрегации реплицирующей РНК и белков, необходимых для сборки капсидов; увеличение локальной концентрации компонентов, необходимых для репликации и сборки путем уменьшения диффузионного пространства; защита РНК от клеточных нуклеаз и рецепторов рас-

познавания образов врожденного иммунитета [25]. На эти же механизмы указывают другие авторы, подтверждающие, что белки ВИЧ-1 могут усугублять поражение печени при ко-инфекции ВГС+ВИЧ путем усиления репликации HCV, модулируя экспрессию гепатоцеллюлярных генов, критических для прогрессирования болезни. Показано, что инактивированный ВИЧ или gp120 увеличивает репликацию HCV, усиливая экспрессию TGF- β 1 как в репликоне, так и в инфекционной модели HCV [26, 27].

Агранулярная (гладкая) эндоплазматическая сеть (ГлЭС) – главная органелла, где происходит биосинтез липидов, накопление кальция и образование детоксицирующих ферментов семейства P-450 [28].

ГлЭС отличается от ГрЭС отсутствием рибосом. В её состав входят соединяющиеся друг с другом небольшие вакуоли и трубочки, которые при ультрацентрифугировании клеточного гомогената, дробясь на мелкие пузырьки, образуют фракцию микросом (рис. 18 и 19).

ГлЭС является главной фабрикой производ-

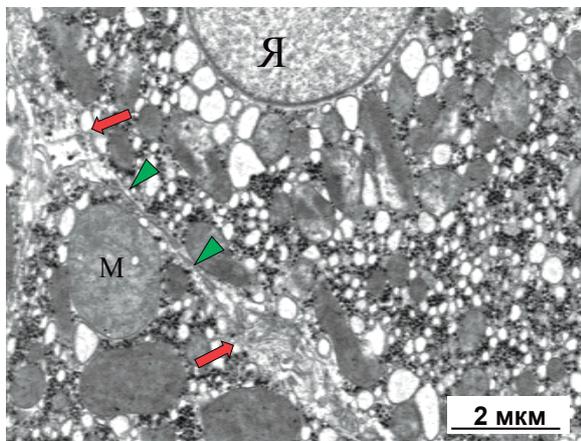


Рисунок 16. – Контакты двух гепатоцитов. Зеленые наконечники стрелок – фрагмент сохраненных плазмолемм; красные – разрушенные участки возможной межклеточной передачи HCV

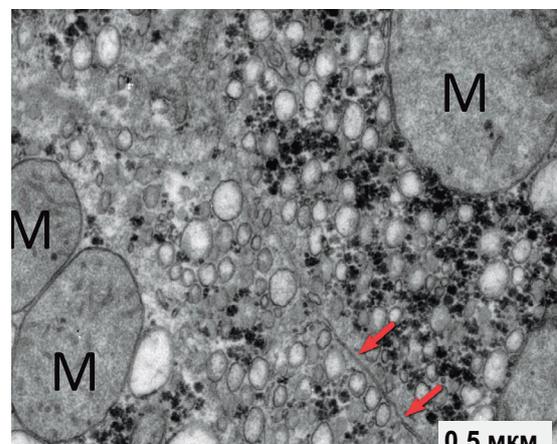


Рисунок 17. – Разрушенная базолатеральная мембрана. Сохранившийся участок обозначен стрелками. «М» – митохондрии с поврежденными кристами.

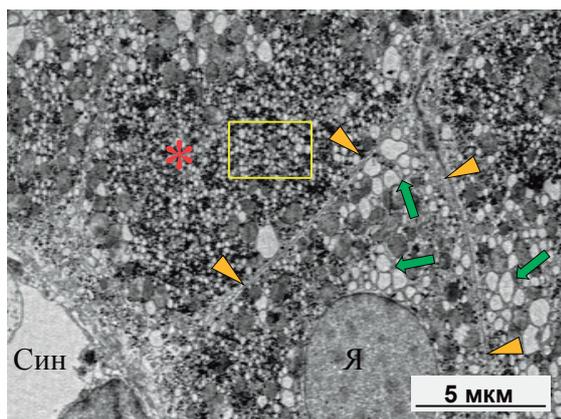


Рисунок 18. – Фрагменты цитоплазмы 3-х гепатоцитов: границы – наконечники стрелок; обширная зона ГлЭС (красная звездочка); кластеры крупных везикул – зеленые стрелки; Син – синусоид, Я – ядро

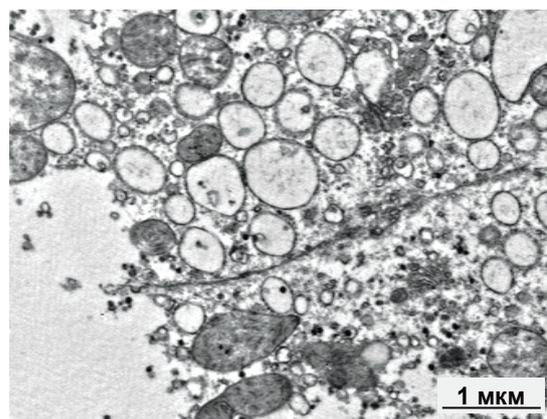


Рисунок 20. – Вакуолизация цитоплазмы гепатоцита за счет расширения профилей ГлЭС

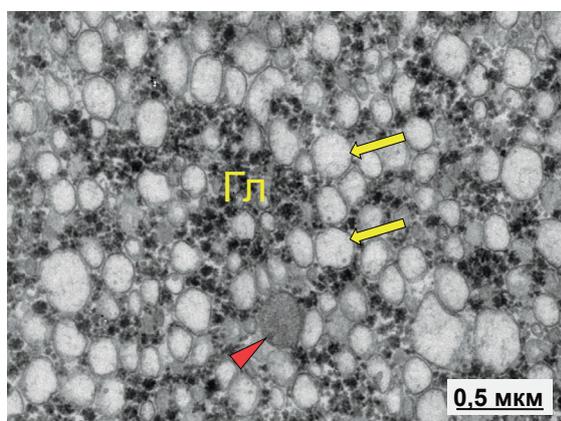


Рисунок 19. – Участок мелковезикулярной сети, выделенный слева желтой рамкой. Между везикулами (желтые стрелки) многочисленные гранулы гликогена (Гл)

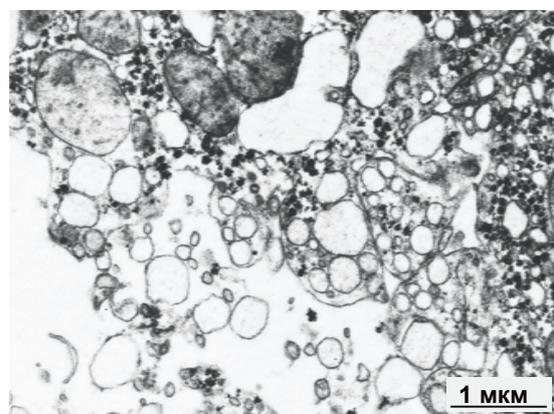


Рисунок 21. – Транслокация элементов ГлЭС к сосудистому полюсу гепатоцита. Отек и локальные разрывы цитоплазмы с выходом мембранных структур ГлЭС в синусоидный капилляр

ства липопротеинов (ЛП) на «экспорт», так как многочисленные ферменты, синтезирующие липидные компоненты ЛП и катализирующие реакции детоксикации при патологии печени, локализируются на мембранах ГлЭС, обеспечивая микросомальное гидроксирование [29]. При приеме стимуляторов ферментов микросомального окисления синтез ферментов детоксикации (Р-450) усиливается за счет увеличения поверхности ГлЭС более чем в 2 раза. При отмене стимуляторов избыток мембран ГлЭС в течение недели уничтожается за счет лизосом (аутофагосом) и ГлЭС приходит к исходному объему [30].

В наших исследованиях отмечены гиперплазия, расширение и полиморфизм профилей ГлЭС в виде микровакуолизации цитоплазмы гепатоцитов. Характерным признаком была транслокация элементов ГлЭС к сосудистому полюсу гепатоцита, на котором регистрировались отек и локальные разрывы цитоплазмы цитоплазматической мембраны с выходом мембранных структур, в т. ч. профилей ГлЭС в синусоидный капилляр (рис. 20, 21).

Комплекс (или аппарат, диктиосома) Гольджи (КГ) – это основная органелла гепатоцита, где осуществляется биохимическая модификация веществ. Название комплекса происходит от имени итальянского ученого Камилло Гольджи, который открыл его в 1898 г. (рис. 22).

КГ представляет сложную сеть ограниченных мембранами расширенных по краям уплощенных полостей (цистерн) в количестве от 3 до 8 в форме диска, лежащих параллельно друг другу на расстоянии около 20 нм и везикул, являющихся местом созревания и сортировки белков. В отличие от ГрЭС, цистерны КГ гладкие, обособлены друг от друга; отдельные цистерны на периферии образуют расширения – ампулы, ширина которых не постоянная. От ампул отшнуровываются пузырьки (D ~50 нм-1 мкм), связанные с цистернами сетью трубочек (рис. 2, 22, 30).

Практически все белки, липиды и мембранные компоненты, направляющиеся к лизосомам, пероксисомам, плазматической мембране или секреторным пузырькам, проходят через КГ. В гепатоците может быть много диктиосом, со-

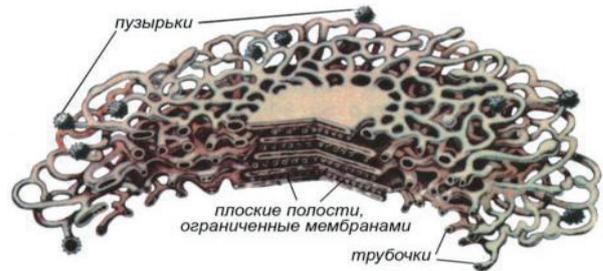
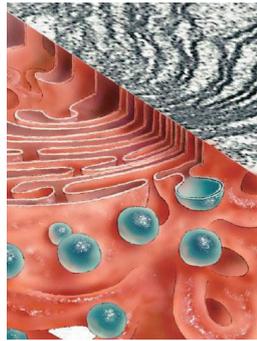


Рисунок 22. – Пластинчатый комплекс Гольджи (схема строения) [31]

единенных с ЭР и друг с другом цистернами и трубочками. КГ чаще выявляется на билиарном полюсе гепатоцита, что доказывает его участие в синтезе желчи [32].

В КГ выделяют 3 отдела цистерн, окруженных мембранными пузырьками: цис-отдел (лат. *cis* – вблизи ядра), медиальный отдел и транс-отдел (лат. *trans* – отдаленный от ядра), отличающихся набором ферментов (рис. 2, 25). В цис-отделе первую цистерну называют «цистерной спасения», с помощью которой ферменты из промежуточной эндоплазматической сети возвращаются обратно. Основным ферментом цис-отдела – фосфогликозидаза; медиального – манназидаза и N-ацетилглюкозаминтрансфераза; транс-отдела – пептидаза и трансфераза. К цис-отделу мигрируют пузырьки от ГрЭС, а «обрабатываемые» в КГ белки перемещаются от цис-отдела к транс-отделу. От мембран транс-отдела отпочковываются первичные лизосомы и секреторные пузырьки, высвобождающие свое содержимое в межклеточное пространство, сливаясь с плазматической мембраной (рис. 23, 24) [31].

Везикулы, переносящие вещества от КГ, на ультраструктурном уровне выглядят пустыми или содержат хлопьевидный материал. Пузырьки, содержащие гидролитические ферменты, становятся лизосомами.

КГ разделяет белки на три потока: лизосомальный, конститутивный экзоцитоз и индуцируемая секреция. КГ участвует в формировании слизистого секрета – мукополисахаридов (гликозамингликанов), образует углеводные компоненты гликокаликса, обеспечивает сульфатирование белковых и углеводных элементов, участвует в частичном протеолизе белков, реже обеспечивает переход неактивной формы соединений в активную [34].

Установлено, что в жизненном цикле HCV нуклеокапсид выходит в сторону просвета ЭР и транслоцируется в КГ для завершения процесса созревания [35]. Созревание вирионов HCV сопровождается фрагментацией и разрушением структур КГ [29]. Временная и динамическая ассоциация белков ВГС с КГ изменяет архитектуру

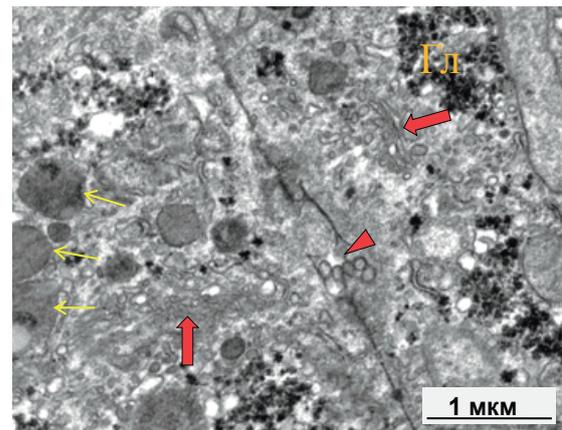


Рисунок 23. – Фрагментация структур КГ в микровезикулы (красные стрелки). Деструкция желчного канала (накопичник стрелки). Желтые стрелки – МХ

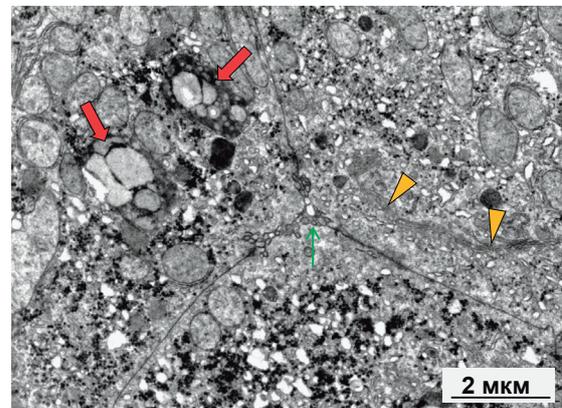


Рисунок 24. – Истончение и разрушение цистерн КГ (желтые стрелки), липофусцинсодержащие лизосомы – красные стрелки

нику этой органеллы в форме атрофии. В гепатоцитах у пациентов с ХГС нами визуализированы разные варианты мембранных изменений этой структуры. Атрофия КГ сопровождается снижением его функциональной активности, выражающейся в редукции вакуолей, числа цистерн и их фрагментации, и даже их полной потерей. Одной из причин таких изменений может быть недостаточность белкового синтеза. Нами отмечено, что цитоплазма гепатоцитов, поражен-

ных ВГС, содержит немногочисленные изолированные профили ГрЭС, что свидетельствует о снижении внешней секреции. Отмечено, что при ХГС (практически во всех случаях) происходила фрагментация цистерн КГ, формирование многочисленных, разного рода везикул с последующим усилением образования первичных лизосом (рис. 25). Имеются данные, что *in vitro* HCV

может распространяться бесклеточной и прямой передачей между клетками, причем последний механизм обеспечивает уклонение от нейтрализующих антител [36].

Лизосомы представляют собой мембранно-замкнутые цитоплазматические гетерогенные органеллы, образующиеся при отпочковывании от цистерн КГ, диаметром от 0,3 до 1 мкм и более,

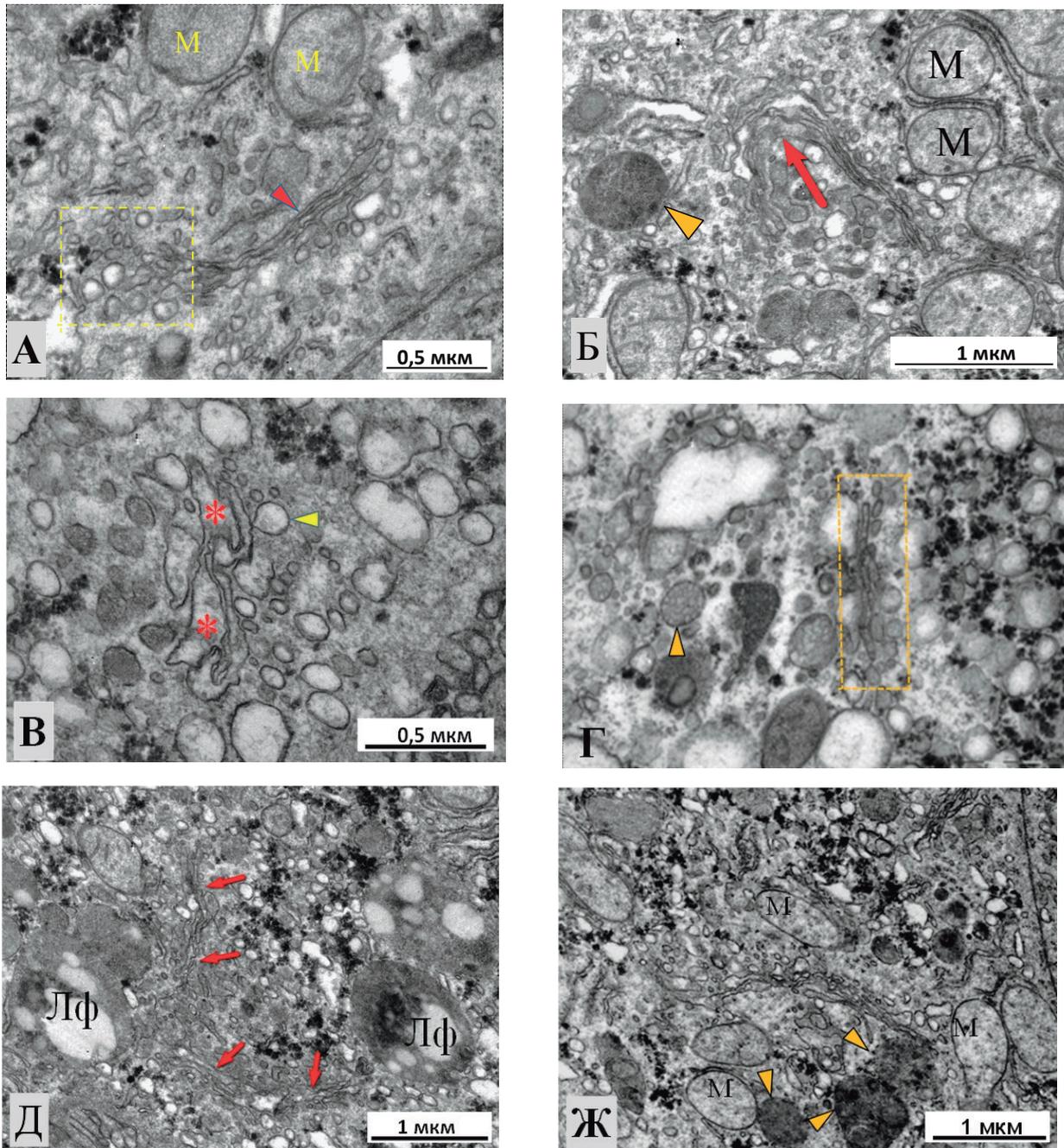


Рисунок 25. – Изменения морфологии КГ у пациентов с ХГС: А – стопка цистерн КГ с хорошо сохраненной структурой; цис-цистерна – наконечник стрелки; отделяющиеся везикулы – прямоугольник; М – митохондрии; Б – значительно расширенная цис-цистерна (стрелка), просвет которой заполнен материалом средней электронной плотности; М – митохондрии; наконечник – лизосома. В – превращение уплощенных цистерн в крупные везикулы неправильной формы (звездочки); отпочковывающаяся везикула – наконечник; поперечно срезанные микроворсинки желчного капилляра – желтый наконечник стрелки; Г – разборка двух сохранившихся цистерн КГ (в рамке) на отдельные фрагменты и везикулы; мультивезикулярное тельце – желтый наконечник; клатриновый пузырь – красный наконечник; Д – фрагментация цистерн двух стопок КГ (стрелки), окруженных липофузиновыми (ЛФ) гранулами; Ж – нарушение архитектуры (утрата цистерн и фрагментация) КГ вблизи лизосом (наконечники стрелок); М – митохондрии.

округлой или эллипсоидной формы, окруженные однослойной липопротеиновой мембраной. Лизосомы ответственны за деградацию состарившихся органелл и разных биомолекул в ЭМСЦ клеток. В гепатоцитах их несколько сотен. Лизосомы находятся в двух внутриклеточных положениях: относительно неподвижный пул перинуклеарных лизосом, сгруппированных вокруг центра организации микротрубочек (МТОС), и набор периферических лизосом, движущихся быстро вдоль микротрубочек стоп-ходом, или обнаруженных в периферийных сетях актина (рис. 26).

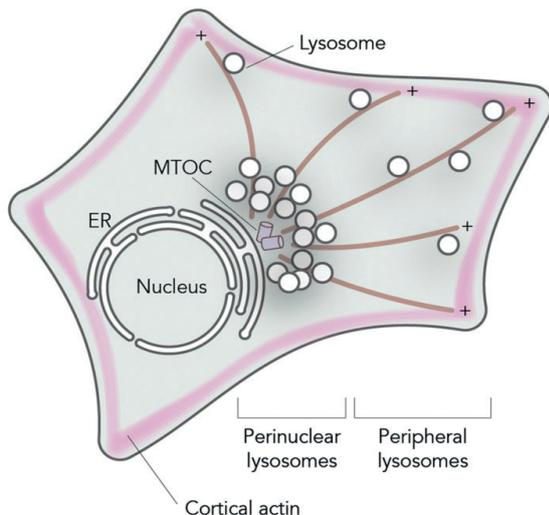


Рисунок 26. – Внутриклеточное распределение лизосом в двух положениях: МТОС – центр организации микротрубочек; ER – эндоплазматический ретикулум [37]

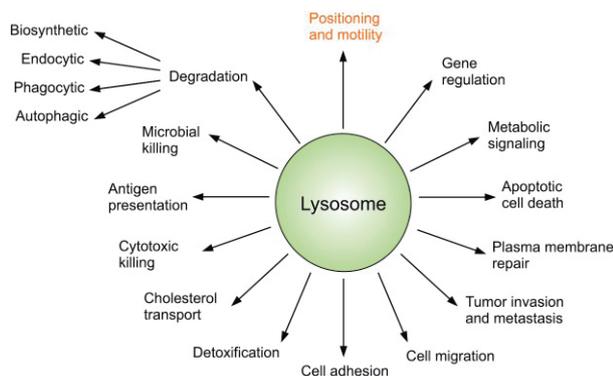


Рисунок 27. – Функции лизосом (схема) [38]

В дополнение к деградации лизосомы в клетке выполняют другие функции: эндоцитарная, фагоцитарная и аутофагическая деградация, презентация антигена, уничтожение клеток-мишеней цитотоксическими Т-клетками и НК-клетками, метаболическая сигнализация, адгезия клеток и миграция, инвазия опухолей и метастазы, а также восстановление плазматической мембраны и способность лизосом двигаться по всей цитоплазме (рис. 27).

Характерные ультраструктурные особенности лизосом – это гомогенное содержимое и четко определяемая граница мембраны. Мембрана лизосом представляет собой единичный бислой, содержащий более 200 интегральных мембранных белков, включая АТФазу V-типа, поддерживающую низкий pH содержимого, переносчики ионных каналов, регулирующие состав транспортеров, экспортирующих продукты деградации в цитозоль, набор высокогликозилированных лизосомальных мембранных белков (LAMPs), защищающих мембрану от деградации лизосомальными гидролазами, а также факторы связывания и белки SNARE, способствующие контакту и слиянию лизосом с другими цитоплазматическими органеллами [37, 38]. Кроме участия в деградации органелл, белков и других веществ, лизосомы участвуют в регуляции генов и в апоптозе клетки при заболеваниях и инфекциях [38].

В них содержится около 60 ферментов (гидролаз), способных разрушить практически любой компонент клетки. Среди них – протеиназы, фосфатазы, эстеразы, ДНКазы, РНКазы, ферменты, разрушающие сложные углеводы. Лизосомы могут разрушать материалы, доставленные им путем биосинтетического транспорта, эндоцитоза, фагоцитоза и аутофагии. Внеклеточные материалы достигают лизосомы главным образом через эндоцитоз и фагоцитоз, аутофагия опосредует доставку внутриклеточных материалов. Аутофагия активируется широким спектром клеточных стрессоустойчивых состояний и опосредует деградацию белковых агрегатов, окисленных липидов, поврежденных органелл и внутриклеточных патогенов. Этот процесс обычно включает образование двойных мембранных везикул, аутофагосом, которые секвестрируют цитоплазматический материал и затем сливаются с лизосомами. Материалы, которые достигают лизосомы, деградируют лизосомальными гидролазами, а полученные продукты распада используются для получения новых клеточных компонентов и энергии в ответ на пищевые потребности клетки [38].

На периферии печеночной дольки их меньше и они не контактируют с желчными канальцами. На светооптическом уровне лизосомы идентифицируют и оценивают степень их развития в клетке по активности гистохимической реакции на кислую фосфатазу. При электронной микроскопии лизосомы определяются как пузырьки, ограниченные от гиалоплазмы (цитозоля) мембраной. Условно выделяют 4 вида лизосом: первичные и вторичные лизосомы, аутофагосомы и остаточные тельца.

Первичные лизосомы диаметром 100-500 нм заполнены гомогенным мелкодисперсным, электронно-плотным содержимым (рис. 28).

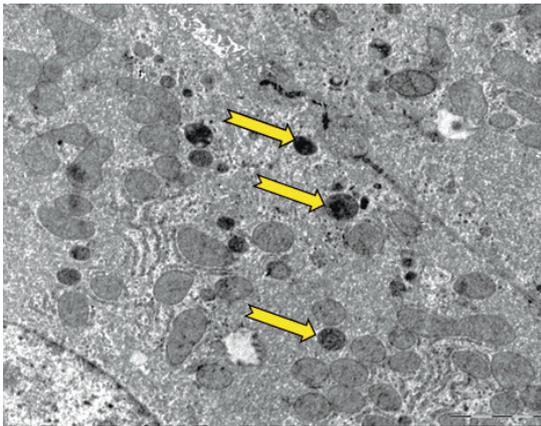


Рисунок 28. – Первичные лизосомы, имеющие гомогенный, выраженный электронно-плотный матрикс. ×12 000

Вторичные лизосомы образуются либо слиянием первичных лизосом с пиноцитозными или фагоцитозными вакуолями, либо путём захвата собственных макромолекул и органелл клетки (рис. 29-31). Вторичные лизосомы подразделяются на гетеролизосомы и аутолизосомы. По размеру они больше первичных, их содержимое неоднородное, с плотными тельцами.

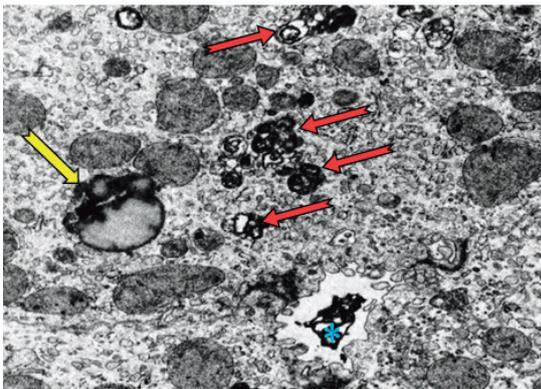


Рисунок 29. – Полиморфные вторичные желчесодействующие лизосомы (красные стрелки) и липидолизосома (желтая стрелка) в цитоплазме гепатоцита; в просвете желчного канальца – с редуцированными и укороченными микроворсинками; компоненты желчи (голубая звездочка). ×20 000

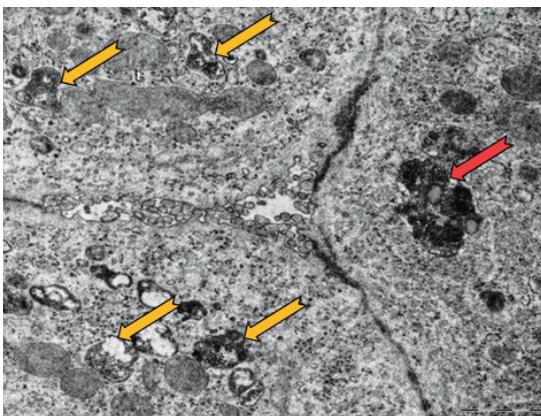


Рисунок 30. – Полиморфные вторичные лизосомы и фагосома (желтые стрелки). Вторичная лизосома с пигментным включением (красная стрелка). ×20 000

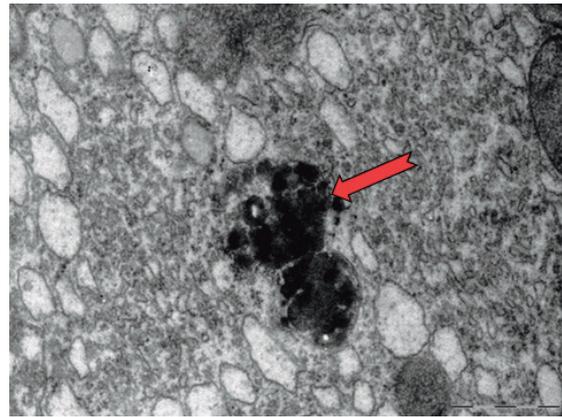


Рисунок 31. – Вторичная лизосома, содержащая пигментное включение. ×50 000

При их наличии говорят о фаголизосомах (гетерофагосомах) или аутофагосомах, если тельца – фрагменты собственных органелл клетки (рис. 32).

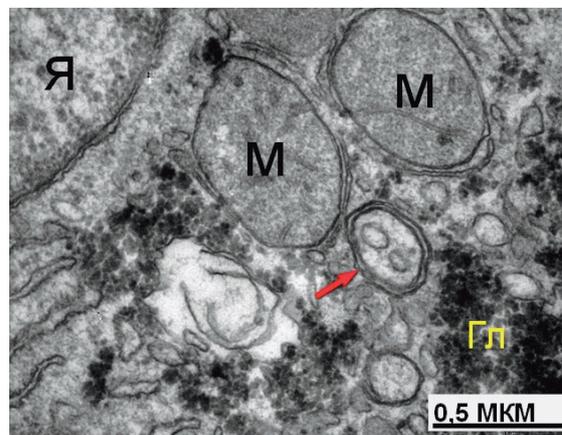


Рисунок 32. – Аутофагосома вблизи ядра гепатоцита (красная стрелка). «Я» – ядро; «М» – митохондрии; Гл – гранулы гликогена

Репликация РНК HCV и продукция структурных и неструктурных белков в ГрЭС и последующее их разделение на субклеточные структуры приводят к стрессу ЭР, повреждению митохондрий и производству активных форм кислорода (рис. 33).

Это активирует процесс аутофагии без увеличения деградации белка. Таким образом, аутофагосомы, количество которых при ХГС возрастает, накапливаются в инфицированных HCV клетках (рис. 34, 35).

Образование двойных мембранных везикул (ДМВ/DMV) может включать аутофагию или несколько ее компонентов, и осуществляться способом, аналогичным образованию аутофагических вакуолей [39]. Это подтверждается морфологическим сходством ДМВ/DMV и аутофагосом. В гетеролизосомах (или фаголизосомах) протекает процесс переваривания материала,

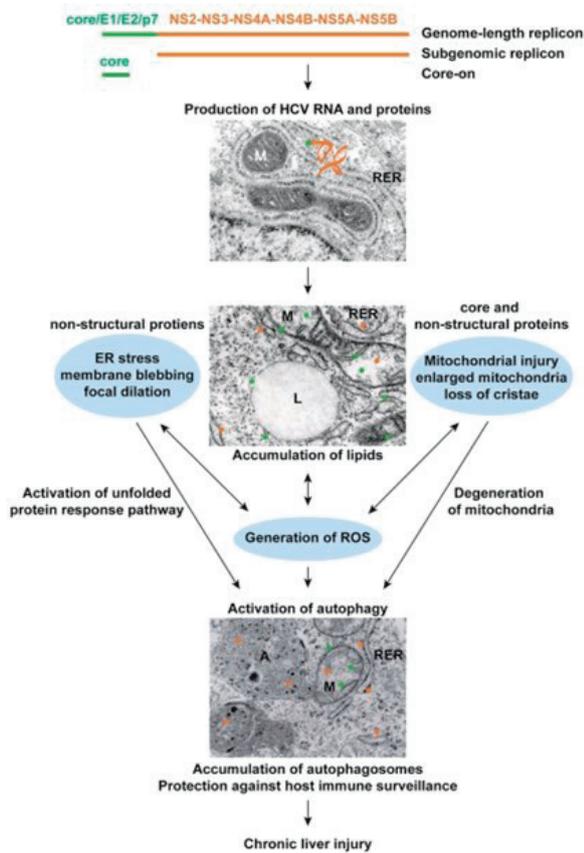


Рисунок 33. – Цитопатические эффекты различных белков HCV [6]

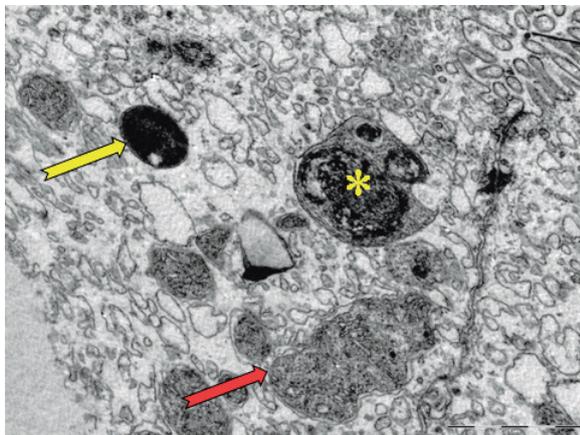


Рисунок 34. – Фаголизосома, содержащая остатки разрушающейся митохондрии (звездочка). Митохондрия, подвергающаяся деструкции (красная стрелка). Первичная лизосома (желтая стрелка). ×30 000

поступающего в клетку извне путем активного транспорта (пиноцитоза и фагоцитоза).

Телолизосомы, или остаточные (резидуальные) тельца, появляются тогда, когда внутрилизосомальное переваривание не приводит к полному разрушению захваченных структур. Остаточные тельца – одна из финальных стадий существования фаго- и аутолизосом. Они обнаруживаются при незавершенном фаго- или аутофагоцитозе, затем выделяются из клетки путем экзоцитоза. При этом непереваренные

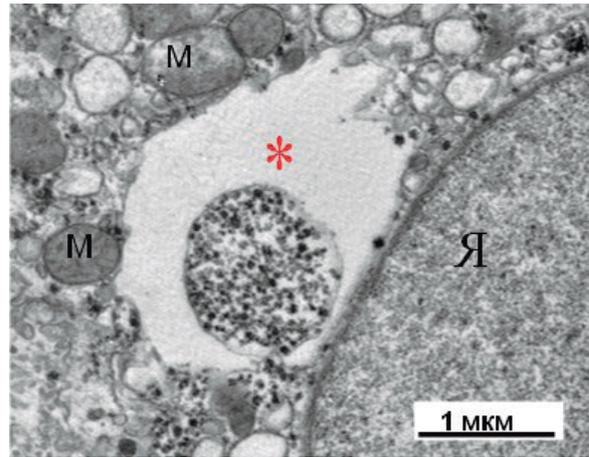


Рисунок 35. – Аутофагическая вакуоль. Процесс санации гепатоцита от HCV

остатки уплотняются, в них часто откладывается пигмент, а сама лизосома теряет свою гидролитическую активность. Телолизосомы имеют уплотненное содержимое, нередко с вторичной структуризацией непереваренных соединений (рис. 36, 37).

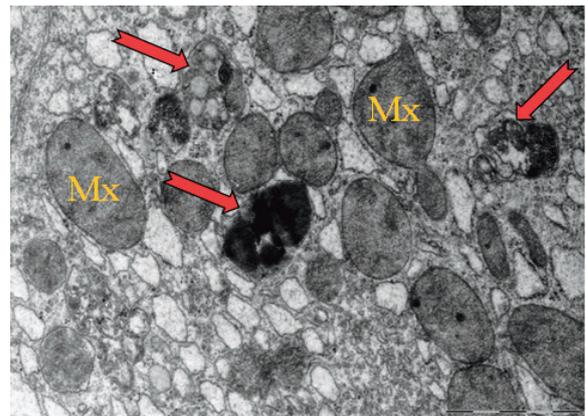


Рисунок 36. – Телолизосомы, или остаточные (резидуальные) тельца (стрелки). Mx – митохондрии. ×30 000

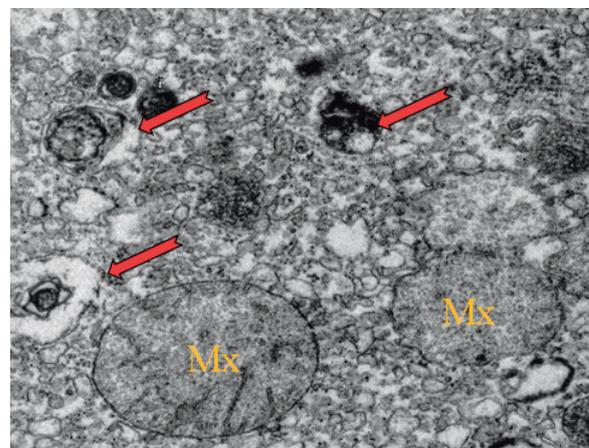


Рисунок 37. – Телолизосомы, или остаточные (резидуальные) тельца. ×40 000

Гранулы гемосидерина более 1 мкм состоят из частиц ферритина и окружены одноконтурной мембраной. В неделящихся клетках накопление телоллизосом становится важным признаком старения. Так, с возрастом в клетках печени накапливаются телоллизосомы с пигментом «старения» – липофусцином (рис. 38).

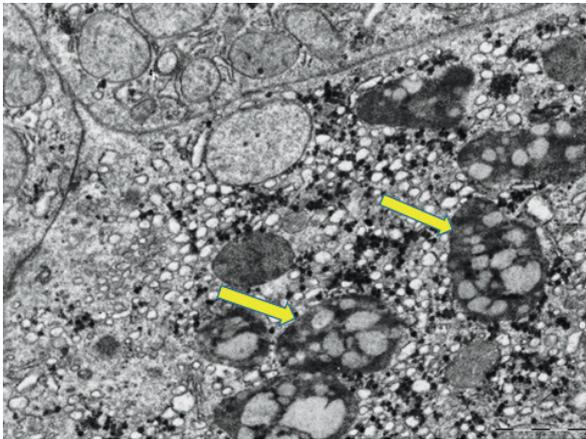


Рисунок 38. – Структуры, содержащие электронно-плотные участки и множественные, мелкие липидные глобулы (липофусцинсодержащие лизосомы), локализованные на базиларном полюсе гепатоцита. $\times 20\ 000$

Выводы

Морфологическая характеристика изменений в ЭМСЦ гепатоцитов наиболее точно может быть представлена при визуализации всех ком-

понентов ЭМСЦ методом электронной микроскопии. Визуализация вирус-индуцированных мембранных изменений ЭМСЦ гепатоцитов раскрывает особенности цитопатических эффектов HCV на разные структуры ЭМСЦ гепатоцитов, ответственные за процессы детоксикации, метаболизма и репликации гепатотропных вирусов. Визуализация особенностей ремоделирования ЭМСЦ гепатоцитов позволяет более точно провести диагностику и оценить вклад конкретных составляющих ЭМСЦ в патогенез и патоморфогенез поражений печени вирусной этиологии, визуализировать такие процессы, как образование «фабрик» репликации вируса, ДМВ, в которых локализуется репликативный комплекс и происходит репликация генома ВГС, что позволяет произвести количественный учет гепатоцитов, пораженных ВГС, а по количеству ДМВ в клетке судить о репликативном потенциале возбудителя. Изменения во всех структурах ЭМСЦ гепатоцитов не носят изолированный характер, характеризуются комплексом специфических ультраструктурных признаков, ассоциированных друг с другом и объединенных апоптозогенным механизмом патогенеза HCV-инфекции. Необходимы дальнейшие исследования по уточнению роли HCV в формировании репликационных «фабрик», разработке методов их идентификации с целью раскрытия новых механизмов прогрессирования HCV-инфекции и трансформации инфекционного процесса в фиброгенный и онкогенный процессы.

References

- Hem A, Kormak D. *Gistologija*. Vol. 4. Moskva: Mir; 2004. 248 p. (Russian).
- Kolman Ja, Rjom KG. *Nagljadnaja biohimija*. Moskva: Mir; 2004. 469 p. (Russian).
- Pechen. In: Petrovskij BV, editor. *Bolshaja medicinskaja jenciklopedija*. Vol. 19. Moskva: Sovetskaja jenciklopedija; 1982. p.153-191. (Russian).
- Afanasev Jul, Bazhenov DV, Borovaja TG, Valkovich Jel, Danilov RK, editors. *Rukovodstvo po gistologii*. Vol. 2. Sankt-Peterburg: Specialnaja literatura; 2011. 511 p. (Russian).
- Organelle [Internet]. Available from: <https://en.wikipedia.org/wiki/Organelle>.
- Alberts B, Brey D, Ljuis Dzh, Rjeff M. *Molekuljarnaja biologija kletki*. Vol. 2. Moskva: Mir; 1993. 539 p. (Russian).
- Chu VC, Bhattacharya S, Nomoto A, Lin J, Zaidi SK, Oberley TD, Weinman SA, Azhar S, Huang TT. Persistent expression of hepatitis C virus non-structural proteins leads to increased autophagy and mitochondrial injury in human hepatoma cells. *PLoS ONE*. 2011;6(12):e28551. doi: 10.1371/journal.pone.0028551.
- Egger D, Wölk B, Gosert R, Bianchi L, Blum HE, Moradpour D, Bienz K. Expression of Hepatitis C Virus Proteins Induces Distinct Membrane Alterations Including a Candidate Viral Replication Complex. *J. Virol*. 2002;76(12):5974-5984.
- Romero-Brey I, Bartenschlager R. Endoplasmic Reticulum: The Favorite Intracellular Niche for Viral Replication and Assembly. *Viruses*. 2016;8(6):E160. doi: 10.3390/v8060160.
- Millonig, GA. Advantages of a phosphate buffer for osmium tetroxide solutions in fixation. *J. Appl. Phys.* 1961;32:1637-1643.
- Glauert RH. Araldite as embedding medium for electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958;46:409-414.
- Glauert AM. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. In: Glauert AM, editor. *Practical methods in electron microscopy*. Vol. 3, pt. 1. Amsterdam: American Elsevier; 1975. 207 p.
- Watson ML. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958;4(4):475-478.
- Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 1963;17:208-212. doi: 10.1083/jcb.17.1.208
- Andreev VP, Tsyrukunov VM, Kravchuk RI, Kurbat MN. Klinicheskaja citologija pecheni: mitohondrii [Clinical cytology of the liver: mitochondria]. *Gepatologija i gastrojenterologija* [Hepatology and Gastroenterology]. 2018;2(2):143-154. (Russian).
- Tsyrukunov VM, Prokopchik NI, Andreev VP, Kravchuk RI. Klinicheskaja morfologija pecheni: distrofii [Clinical morphology of liver: dystrophies]. *Gepatologija i gastrojenterologija* [Hepatology and Gastroenterology]. 2017;1(2):140-152. (Russian).
- Wieczorek A, Stepien PM, Zarebska-Michaluk D, Krol T. Megamitochondria formation in hepatocytes of patient with chronic hepatitis C – a case report. *Clin Exp Hepatol*. 2017;3(3):6169-6175. doi: 10.5114/ceh.2017.68287.
- Kim CW, Chang KMi. Hepatitis C virus: virology and life cycle. *Clin Mol Hepatol*. 2013;19(1):17-25.
- Dash S, Chava S, Aydin Y, Chandra PK, Ferraric P, Chen W, Balart LA, Wu T, Garry RF. Hepatitis C Virus Infection

- Induces Autophagy as a Prosurvival Mechanism to Alleviate Hepatic ER-Stress Response. *Viruses*. 2016;8(5):150. doi: 10.3390/v8050150.
20. Romero-Brey I, Merz A, Chiramel A, Lee J-Y, Chlanda P, Haselman U, Santarella-Mellwig R, Habermann A, Hoppe S, Kallis S, Walther P, Antony C, Krijnse-Locker J, Bartenschlager R. Three-dimensional architecture and biogenesis of membrane structures associated with hepatitis C virus replication. *PLoS Pathog*. 2012;8:e1003056. doi: 10.1371/journal.ppat.1003056.
 21. Wölk B, Sansonno D, Kräusslich HG. Subcellular localization, stability, and trans-cleavage competence of the hepatitis C virus NS3-NS4A complex expressed in tetracycline-regulated cell lines. *J. Virol*. 2000;74:2293-2304.
 22. Gillespie LK, Hoenen A, Morgan G, Mackenzie JM. The endoplasmic reticulum provides the membrane platform for biogenesis of the flavivirus replication complex. *J. Virol*. 2010;84:10438-10447. doi: 10.1128/JVI.00986-10.
 23. Paul D, Madan V, Ramirez O, Bencun O, Stoeck IK, Jirasko V, Bartenschlager R. Glycine Zipper Motifs in Hepatitis C Virus Nonstructural Protein 4B Are Required for the Establishment of Viral Replication Organelles. *J. Virol*. 2018;92(4):e01890-1817. doi: 10.1128/JVI.01890-17.
 24. Wang H, Tai FW. Mechanisms of Cellular Membrane Reorganization to Support Hepatitis C Virus Replication. *Viruses*. 2016;8(5):142. doi: 10.3390/v8050142.
 25. Suzuk T. Hepatitis C Virus Replication. *Adv. Exp. Med.* 2017;997:199-209. doi: 10.1007/978-981-10-4567-7_15.
 26. Chatel-Chaix L, Bartenschlager R. Dengue Virus- and Hepatitis C Virus-Induced Replication and Assembly Compartments: the Enemy Inside – Caught in the Web. *J. Virol*. 2014;88(11):5907-5911.
 27. Whitmill AS, Kim S, Rojas V, Gulraiz F, Afreen K, Jair M, Singh M, Park IW. Signature molecules expressed differentially in a liver disease stage-specific manner by HIV-1 and HCV co-infection. *PLoS One*. 2018;13(8):e0202524. doi: 10.1371/journal.pone.0202524.
 28. Lin W, Weinberg EM, Tai AW, Peng LF, Brockman MA, Kim KA, Kim S, Borges CB. HIV increases HCV replication in a TGF-beta1-dependent manner. *Gastroenterology*. 2008;134(3):803-811. doi: 10.1053/j.gastro.2008.01.005.
 29. Tsyrukunov VM, Bushma MI, Legonkova LF. Kordiamin – aktivator processov detoksikacii: jeksperimentalnoe obosnovanie i pervye klinicheskie rezultaty. *Nizhegorodskij medicinskij zhurnal*. 1991;3:50-55. (Russian).
 30. Zavodnik LB, Bushma MI, Lukienko PI, Abakumov GZ, Zverinskij IV, Tsyrukunov VM. Stabilizacija dijetilnikotinamidom (kordiaminom) gidroksilirujushhej funkcii pecheni krolikov pri otravlenii CCl₄ [Stabilization by diethylamide of nicotinic acid (cordiamine) of rabbit liver hydroxylating function in poisoning with CCl₄]. *Farmakologija i toksikologija* [Pharmacology and Toxicology]. 1991;54(4):69-71. (Russian).
 31. Zavodnik LB, Lukienko PI, Bushma MI, Shoka AJu, Tsyrukunov VM. Korrekcija dijetilnikotinamidom (kordiaminom) narushenija funkcii monooksigenaznoj sistemy pri tetrahlorometanovom i virusnom gepatitah [Impairments of the monooxygenase system in CC14 and virus-induced hepatitis; correction by cordiamine]. *Voprosy medicinskij himii*. 1993;39(5):45-47. (Russian).
 32. Filatov A. Kompleks Goldzhi: opisanie. In: SYL.ru [Internet]. Available from: http://www.syl.ru/article/162510/mod_kompleks-goldji-opisanie. (Russian).
 33. Hansen MD, Johnsen IB, Stiberg KA, Sherstova T, Wakita T, Richard GM, Kandasamy RK, Meurs EF, Anthonson MW. Hepatitis C virus triggers Golgi fragmentation and autophagy through the immunity-related GTPase M. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2017;114(17):E3462-E3471. doi: 10.1073/pnas.1616683114.
 34. Feldmann G. Morphologic aspects of hepatic synthesis and secretion of plasma proteins. *Prog. Liver Dis*. 1979;6:23-41.
 35. Morozov VA, Lagaye S. Hepatitis C virus: Morphogenesis, infection and therapy. *World J. Hepatol*. 2018;10(2):186-212. doi: 10.4254/wjh.v10.i2.186.
 36. Timpe JM, Stamataki Z, Jennings A, Hu K, Farquhar MJ, Harris HJ, Schwarz A, Desombere I, Roels GL, Balfe P, McKeating JA. Hepatitis C virus cell-cell transmission in hepatoma cells in the presence of neutralizing antibodies. *Hepatology*. 2008;47(1):17-24. doi:10.1002/hep.21959.
 37. Cabukusta B, Neeffjes J. Mechanisms of lysosomal positioning and movement. *Traffic*. 2018;19(10):761-769. doi: 10.1111/tra.12587.
 38. Pu J, Guardia CM, Keren-Kaplan T, Bonifacino JS. Mechanisms and functions of lysosome positioning. *J. Cell Sci*. 2016;129(23):4329-4339. doi: 10.1242/jcs.196287.
 39. Ballabio A. The awesome lysosome. *EMBO Mol. Med*. 2016;18(2):73-76. doi: 10.15252/emmm.201505966.
 40. Schlegel A, Giddings TH Jr, Ladinsky MS, Kirkegaard K. Cellular origin and ultrastructure of membranes induced during poliovirus infection. *J. Virol*. 1996;70(10):6576-6588.
 41. Novikoff AB, Novikoff PM. Microperoxisomes and peroxisomes in relation to lipid metabolism. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 1982;386:138-152.

Поступила: 10.05.2019

Принята к печати: 15.05.2019