

УДК 611.018.61:611.018.8

К ВОПРОСУ О ЛОКАЛИЗАЦИИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАХАЛЯ В СОСТАВЕ ГЛАДКОЙ МУСКУЛАТУРЫ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНЫХ СИСТЕМ

© 2012 г. А. Л. Зашихин, Ю. В. Агафонов, А. Ю. Любезнова

Северный государственный медицинский университет, г. Архангельск

Гладкая мышечная ткань представляет собой сложный и динамичный ансамбль мышечных клеток, характеризующихся различными структурно-метаболическими параметрами. В состав гладкой мускулатуры инкорпорированы интерстициальные клетки Кахаля (ИКК), структурная организация которых и расположение в составе мышечной ткани позволяют рассматривать их в качестве важного компонента системы, отвечающей за локальную регуляцию функциональной активности гладкой мышечной ткани различных органов. Целью настоящей работы было получение надежной технологии для выделения изолированных ИКК. Был использован метод щелочной диссоциации. Полученные результаты свидетельствуют о том, что данный метод позволяет выявлять и проводить корректный морфологический анализ интерстициального клеточного компонента гладкой мускулатуры различной органной и видовой специфичности.

Ключевые слова: гладкая мышечная ткань, интерстициальные клетки Кахаля.

Гладкая мышечная ткань представляет собой сложный и динамичный ансамбль гладких мышечных клеток (ГМК), характеризующихся различными структурно-метаболическими параметрами. Изменения морфофункциональных параметров гладкой мышечной ткани лежат в основе развития многочисленных заболеваний, обусловленных как влиянием вредных факторов окружающей среды, так и общими изменениями экологической ситуации (хронические заболевания воздухоносных путей, астматический синдром). Результаты исследований последних лет позволяют констатировать существование в составе дефинитивной гладкой мускулатуры контрактильных лейомиоцитов различного уровня дифференциации, соотношение которых в популяции определяет камбиальные свойства ткани. Наряду с этим в состав гладкой мускулатуры кишечника инкорпорированы интерстициальные клетки Кахаля (ИКК), структурная организация которых и расположение в составе мышечной ткани позволяют рассматривать их в качестве важного компонента системы, отвечающей за локальную регуляцию функциональной активности гладкой мышечной ткани различных органов [3, 6, 7, 9]. Работами ряда исследователей было показано, что данный тип клеток не имеет невральное генеза, а характеризуется мезенхимным происхождением [8].

На сегодняшний день отсутствуют четкие морфоцитохимические характеристики данных клеточных элементов. В ряде исследований авторы использовали метод анализа изолированных клеток для определения четких дефиниций ИКК [1, 4]. Данный метод позволяет на светооптическом уровне четко идентифицировать эти клетки, что практически невозможно при анализе стандартных гистологических срезов.

В настоящем исследовании была поставлена задача провести сравнительный анализ изолированных клеточных компонентов гладкой мускулатуры различных висцеральных органов с целью выявления в ее составе интерстициальных клеток.

Методы

Была изучена мышечная ткань воздухоносных путей, желудочно-кишечного тракта и желчного пузыря у лабораторных животных и человека. Исследован материал, полученный от 5 морских свинок, 15 белых беспородных крыс (самцы, масса 300–350 г), а также материал, полученный при 10 операционных вмешательствах на желудке и желчном пузыре. Животных декапитировали под эфирным наркозом. Все действия, предусматривающие контакт с лабораторными животными, осуществляли с учетом Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Для получения однородной взвеси изолированных гладких миоцитов и изучения мышечных фрагментов стенок полых органов использовался оригинальный метод прицельной клеточной диссоциации [2], позволяющий избирательно выделять из стенки органов тканевые компоненты определенного типа. Выделенные микрофрагменты затем фиксировали при температуре +5 °С в растворе 10 % формалина на фосфатном буфере при рН = 7,4 в течение 14–20 дней, диссоциировали в 50 % водном растворе КОН в течение 2,5–3 часов. Разделения клеток достигали с помощью гидроудара струи воды из микропипетки с последующим пассажем содержимого пробирки, что позволяло получить однородную взвесь клеток, из которой готовили мазки. Наряду с этим были приготовлены гистологические срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином.

Результаты

Анализ полученного материала свидетельствует о том, что при изучении стандартных гистологических срезов гладкой мышечной ткани и использовании классических методов окрашивания отсутствует возможность оценить морфологические характеристики клеточных элементов, входящих в ее состав (рис. 1А. Рис. 1 и 2 см. на внутренних сторонах передней и задней сторон обложки). Это обусловлено очень плотным расположением клеток в составе мышечного пласта и сильной вариативностью объемов их цитоплазмы, попадающей в область гистологического среза. При проведении исследования данной ткани с помощью метода клеточной диссоциации удается получить изолированные клеточные элементы, имеющие четкие границы и располагающиеся в один слой, что исключает ошибки при проведении количественных исследований (рис. 1Б и В). Анализ материала, полученного из различных висцеральных органов лабораторных животных и человека, свидетельствует, что примененный метод позволяет получать стабильные результаты при анализе гладкой мышечной ткани различной органной и видовой специфичности.

Изучение значительного объема изолированных клеток позволяет констатировать, что при данном технологическом подходе в составе ГМК различных органных систем на светооптическом уровне удается идентифицировать клеточные элементы, существенно отличающиеся по своей морфологии от классических миоцитов. Данные клетки характеризуются неправильной формой, имеют центрально расположенное слабобазофильное ядро и многочисленные отростки. Светооптически в цитоплазме определяются отдельные вакуоли. Сравнительный анализ различных органов позволил констатировать наличие этих клеточных элементов во всех исследованных объектах (рис. 2А, Б и В). Морфологические характеристики выявленных клеток существенно отличаются от характеристик гладких миоцитов и полностью соответствуют данным, полученным

другими авторами [5, 10], что позволяет отнести их к группе интерстициальных клеток в составе гладкой мышечной ткани.

Таким образом, применение метода клеточной диссоциации позволяет выявлять интерстициальный клеточный компонент гладкой мускулатуры различной органной и видовой специфичности на светооптическом уровне и проводить его корректный морфологический анализ. Использование данной технологии дает возможность не только исследовать линейные параметры изучаемых объектов, но и проводить комплексный цитоспектрофотометрический анализ ядерных и цитоплазматических метаболических процессов в интерстициальных клетках.

Список литературы

1. *Зашихин А. Л., Агафонов Ю. В., Селин Я.* Морфофункциональная характеристика пейсмекеров гладкой мышечной ткани // *Морфология*. 1999. № 2. С. 46–50.
2. Способ получения препаратов изолированных клеток : пат. 2104524 Рос. Федерация / *Зашихин А. Л., Агафонов Ю. В., Лисишников Л. В.* № 9418751/14 ; заявл. 23.05.1994 ; опубл. 10.02.1998.
3. *Ahmadi O., Nicholson L., Gould M., Mitchell A., Stringer M.* Interstitial cells of Cajal are present in human extrahepatic bile ducts // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2010. Vol. 25. P. 277–285.
4. *Hinescu M., Ardeleanu C., Gherghiceanu M., Popescu M.* Interstitial Cajal like cells in human gallbladder // *J. Mol. Hist.* 2007. Vol. 38. P. 275–284.
5. *Huanga Y., Meia F., Yua B., Zhanga H., Hana J.* Distribution of the interstitial Cajal-like cells in the gallbladder and extrahepatic biliary duct of the guinea-pig // *J. Fcta histochemica*. 2008. Vol. 111. P. 157–165.
6. *Jan D., Simonetta M., Pellegrini F.* About the presence of interstitial cells of Cajal outside the musculature of the gastrointestinal tract // *J. Cell. Mol. Med.* 2005. Vol. 9 (2). P. 468–473.
7. *Johnston L., Woolsey S., Cunningham R., O’Kane H., Duggan B., Keane P.* Morphological Expression of KIT Positive Interstitial Cells of Cajal in Human Bladder // *The journal of urology*. 2010. Vol. 184. P. 370–377; 725–733.
8. *Lecoin L., Gabella G., Dourin N.* Origin of the c-kit positive interstitial cells in the avian bowel // *Development*. 1996. Vol. 122. P. 725–733.
9. *Silva P., Soares E., Bellini M., Veronese R., Britto S.* Is the positive c-kit immunostaining associated with the presence of cells analogous to the interstitial cells of Cajal in the ciliary muscle? // *Arq Bras Oftalmol*. 2009. Vol. 72(1). P. 43–46.
10. *Takaki M.* Gut Pacemaker Cells: the Interstitial Cells of Cajal (ICC) // *J. Smooth Muscle Res.* 2003. Vol. 39(5). P. 137–161.

References

1. *Zashikhin A. L., Agafonov Yu. V., Selin Ya.* Morfofunktsional'naya kharakteristika peismekerov gladkoi myshechnoi tkani [Morphofunctional characteristics of smooth muscle tissue pacemakers]. [*Morphology*]. 1999, no. 2, pp. 46-50. [in Russian]
2. *Sposob polucheniya preparatov izolirovannykh kletok* [Process of production of single cell preparations] : pat. 2104524 Ros. Federatsiya / *Zashikhin A. L., Agafonov Yu. V.,*

Lisishnikov L. V. N 9418751/14 ; zayavl. 23.05.1994 ; opubl. 10.02.1998. [in Russian]

3. Ahmadi O., Nicholson L., Gould M., Mitchell A., Stringer M. Interstitial cells of Cajal are present in human extrahepatic bile ducts. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2010; 25: 277-285.

4. Hinescu M., Ardeleanu C., Gherghiceanu M., Popescu M. Interstitial Cajal like cells in human gallbladder. *J Mol Hist*. 2007; 38: 275-284.

5. Huang Y., Meia F., Yua B., Zhanga H., Hana J. Distribution of the interstitial Cajal-like cells in the gallbladder and extrahepatic biliary duct of the guinea-pig. *J. Fcta histochemica*. 2008; 111: 157-165.

6. Jan D., Simonetta M., Pellegrini F. About the presence of interstitial cells of Cajal outside the musculature of the gastrointestinal tract. *J. Cell. Mol. Med*. 2005; 9(2): 468-473.

7. Johnston L., Woolsey S., Cunningham R., O'Kane H., Duggan B., Keane P. Morphological Expression of KIT Positive Interstitial Cells of Cajal in Human Bladder. *The journal of urology*. July 2010; 184: 370-377, 725-733.

8. Lecoin L., Gabella G., Dourin N. Origin of the c-kit positive interstitial cells in the avian bowel. *Development*. 1996; 122: 725-733.

9. Silva P., Soares E., Bellini M., Veronese R., Britto S. Is the positive c-kit immunostaining associated with the presence of cells analogous to the interstitial cells of Cajal in the ciliary muscle? *Arq Bras Oftalmol*. 2009; 72(1): 43-46.

10. Takaki M. Gut Pacemaker Cells: the Interstitial Cells of Cajal (ICC). *J. Smooth Muscle Res*. 2003; 39 (5): 137-161.

REVISITED LOCALIZATION OF CAJAL CELLS IN SMOOTH MUSCLES OF DIFFERENT ORGANS

A. L. Zashikhin, Yu. V. Agafonov, A. Yu. Lubeznova

Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

Smooth muscle tissue represents a complicated and dynamical ensemble of smooth muscle cells characterized by different structural-metabolic parameters. In the composition of smooth muscle tissue a group of cell elements (cells of Cajal, ICC) is incorporated. Their structural organization and localization in smooth muscle tissue allow to consider them an important component of the system responsible for functional activity regulation. The goal of the study was to get a reliable technology for ICC isolation. The method of the alkaline cell dissociation was used. Isolated smooth cells of different organs were studied. Our findings have shown that the cells we have got by the method of cell dissociation had clear stable morphological parameters of the interstitial cells of Cajal.

Keywords: smooth muscle tissue, interstitial cells of Cajal

Контактная информация:

Агафонов Юрий Витальевич — доктор медицинских наук, профессор, проректор по учебно-воспитательной работе ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России

Адрес: 163000, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51

Тел. (8182) 28-59-48

E-mail: chistjakoval@nsmu.ru