

Зашихин А. Л., Селин Я., Любезнова А. Ю.

К ВОПРОСУ О СПЕЦИФИКЕ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАХАЛЯ В СОСТАВЕ ГЛАДКОЙ МУСКУЛАТУРЫ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ ОРГАНОВ ЧЕЛОВЕКА

*Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (заведующий — проф. А. Л. Зашихин)
СГМУ, Архангельск, e-mail: nastya010791@inbox.ru*

Результаты исследований последних лет свидетельствуют о том, что в состав дефинитивной гладкой мышечной ткани (ГМК) различных органов включены клеточные элементы, существенно отличающиеся по структурной организации от гладких миоцитов (ГМК). Данные клеточные элементы получили название интерстициальные клетки Кахалья (ИКК) [1]. Работами ряда авторов показано, что расположение в составе мышечной ткани позволяет рассматривать их в качестве важного компонента системы, отвечающей за регуляцию функциональной активности ГМТ [2]. Выявлено, что данный тип клеток не имеет невральное генеза, а характеризуется мезенхимным происхождением [3]. Основным маркером, позволяющим идентифицировать данные клеточные элементы, являются антитела к c-kit гену.

В работе проведен сравнительный ультраструктурный и иммуноцитохимический анализ гладкой мышечной ткани различных отделов желудочно-кишечного тракта.

Материал и методика. Проведена иммуногистохимическая реакция для выявления ИКК на срезах различных отделов желчного пузыря человека. Использовались антитела c-kit в разведении 1:100. Иммуноцитохимия проводилась на парафиновых срезах толщиной 5–7 мкм. Материал фиксировали в 4 %-ном растворе параформальдегида на 0,1 М фосфатно-солевом буфере (PBS, Sigma, США) при pH = 7,4. Срезы депарафинировали ксилолом и дегидрировали 95 %-м этиловым спиртом, инкубировали в буфере соли фосфата (PBS) с нормальной 5 %-й сывороткой на 15–20 мин с первичными антителами в разведении 1:100 на 1 час при температуре 4 °С, при этом использовались компоненты стандартного набора Vector Laboratories, Inc, США. В качестве первичных антител выступал поликлональный иммуноглобулин c-kit (C-19), Santa Cruz Biotechnology. Экспозицию с вторичными антителами (в разведении 1:100) выдерживали 30 мин, визуализи-

ровали реакцию с помощью хромогена (диамина бензидина DAB 1 % — Dako, Дания) в течение 5—10 мин. Докраску ядер клеток проводили ядерным красителем DAPI (4,6-диамидино-2-фенилиндо́л, Molecular Probes, Inc, США). Заключительный этап — обезвоживание срезов в этаноле, нанесение бальзама, покрытие стеклом. Для проверки достоверности исследований была создана контрольная группа образцов. Техника проведения иммуногистохимической реакции идентична, за исключением экспозиции с первичными и вторичными антителами.

Для электронно-микроскопического исследования материал фиксировали в 2,5 %-ном растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН = 7,2—7,4) в течение 2 часов и дофиксировали в течение 1 часа в 2 %-ном растворе тетраоксида осмия при температуре 5 °С. Кусочки промывали в буфере, затем обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации и ацетоне, в 70 %-ном спирте, контрастировали 1 % уранилацетатом в течение 12 часов и заливали в смесь эпон—аралдит. Срезы готовили в ультратоме LKB-5 (Bromma, Швеция), контрастировали по стандартной методике E. S. Reynolds [4], просматривали и фотографировали в электронном микроскопе JEM-100CX.

Результаты исследования. Полученные данные свидетельствуют о том, что в состав гладкой мускулатуры желчного пузыря, желудка, тонкого кишечника инкорпорированы клеточные элементы, которые дают позитивную реакцию на С-kit, что позволяет отнести их к группе интерстициальных клеток Кахаля. Электронно-микроскопический анализ выявил существенные отличия данных клеточных элементов от контрактильных лейомиоцитов. Вместе с тем эти клетки представляют собой гетероморфную популяцию и характеризуются различиями в ультраструктурной организации. Они могут быть отнесены к различным группам интерстициальных клеток гладкой мускулатуры. Выявлено 4 разновидности ИКК, различающиеся по ультраструктуре, способности формировать контакты с гладкими миоцитами или нервными терминалями. Характер их локализации и уровень интеграции в ГМТ позволяет предположить, что ИКК являются важным компонентом гладкой мускулатуры различных органов. Наличие многочисленных плотных мембранных взаимосвязей этих клеток друг с другом, гладкими миоцитами и нервными терминалями допускает возможность формирования ими интегрирующей системы, участвующей в реализации вегетативной регуляции функциональной деятельности гладкой мускулатуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ramon y Cajal S.* Histologie du systeme nerveux de l'home et des vertebres. Paris: Maloineegu, 1911.
2. *Liu L. W. C., Daniel E. E., Huizinga J. D.* Excitability of canine colon circular muscle disconnected from the network of intstitial cells of Cajal // *Can. J. Phisiol. Pharmacol.* 1998. V. 70. P. 289—295.
3. *Sanders K. M.* Development and plasticity of interstitial cells of Cajal // *Neurogastroenterol. Mot.* 1999. V. 11. P. 311—338;
4. *Reynolds E. S.* The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy // *J. Cell Biol.* 1963. V. 13. P. 208—212.