

УДК 616.613:616.67:611.73:616.74-076

**Ультраструктурная организация клеток мышечной оболочки верхних мочевых
путей в норме и при уретерогидронефрозе**

Т.А. Квятковская

Днепропетровская государственная медицинская академия

Кафедра урологии, оперативной хирургии и топографической анатомии

(зав. - д-р мед. наук, проф. А.В. Люлько)

Реферат

В результате исследования 323 электронограмм мышечной оболочки почечной лоханки и мочеточника собаки установлено, что атипичные светлые (пейсмерные) гладкомышечные клетки (ГМК) представлены в почечной лоханке и, в ограниченном количестве, в лоханочно-мочеточниковом сегменте (ЛМС) и проксимальной части мочеточника. После операций на почечной лоханке и ЛМС они могут играть роль латентных пейсмеров. Количество темных ГМК больше в дистальной части мочеточника по сравнению с проксимальной и увеличивается при уретерогидронефрозе. В мышечной оболочке мочеточника собаки присутствуют ИКК-подобные клетки, которые могут принимать участие в передаче возбуждения, их число нарастает при уретерогидронефрозе.

Ключевые слова: почечная лоханка, мочеточник, электронная микроскопия

Реферат

В результаті дослідження 323 електронограм м'язової оболонки ниркової миски і сечоводу собаки встановлено, що атипові світлі (пейсмерні) гладком'язові клітини (ГМК) представлені в нирковій мисці, а також, в обмеженій кількості, в лоханково-сечовідному сегменті (ЛСС) і проксимальній частині сечоводу. Після операцій на нирковій мисці та ЛСС вони можуть відігравати роль латентних пейсмерів. Кількість темних ГМК більше в дистальній частині сечоводу у порівнянні з проксимальною та збільшується при уретерогідронефрозі. В м'язовій оболонці сечоводу собаки присутні ІКК-подібні клітини, які можуть приймати участь в передачі збудження, їх кількість зростає при уретерогідронефрозі.

Ключові слова: електронна мікроскопія, ниркова миска, сечовід, гладком'язові клітини, ІКК-подібні клітини

Resume

THE ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF A MUSCULAR COAT CELLS
OF THE UPPER URINARY TRACT IN THE NORM AND AT
URETEROHYDRONEPHROSIS

T.A. KVJATKOVSKAJA

Resume: 323 electronogramms of dogs' muscular coat renal pelvis and ureter were investigated. It was established, that atypical light (pacemaker) smooth muscle cells (SMC) are presented in renal pelvis and in the limited quantity in a pelviureteral segment (PUS) and a proximal part of ureter. They can play a role of latent pacemakers after operations on renal pelvis and PUS. The quantity of dark SMC is enlarged in a distal part of ureter and at ureterohydronephrosis. There are IKK-like cells at a muscular cover of dog's ureter. These cells can take part in excitation transfer and at ureterohydronephrosis, their number is enlarged.

Keywords: electron microscopy, renal pelvis, ureter, smooth cells, Cajal-like cells

Введение. В поисках морфологической идентификации водителя ритма (пейсмекера) сократительной активности верхних мочевых путей была выявлена гетероморфность гладкомышечных клеток (ГМК). На основании изучения ультраструктуры ГМК верхних мочевых путей экспериментальных животных [1] и человека [2] было выделено два вида миоцитов, отличающиеся электронной плотностью цитоплазмы: «светлые» и «темные» миоциты. «Светлые» ГМК, обнаруженные в почечных чашечках и лоханке, были названы пейсмекерными, а «темные» – рабочими. Описание «атипичных» ГМК, которым отводится роль пейсмекерных, в различных исследованиях отличается, и до настоящего времени существование морфологического субстрата водителя ритма и проводящей системы в верхних мочевых путях остается дискуссионным [3]. Существует мнение, что в «атипичных» ГМК хорошо развита эндоплазматическая сеть, сократительные миофиламенты организованы в отдельные пучки [4], ими заняты менее 40% секционных полей ГМК [5]. Вместе с тем, существует концепция, в соответствии с которой различные типы ГМК в гладкомышечной ткани рассматриваются, как единый гладкомышечный дифферон, в состав которого включены группы клеток, характеризующиеся различными структурно-метаболическими параметрами. Так, среди ГМК мочеточников детей, полученных методом прицельной клеточной диссоциации, были выделены субпопуляции малых (12,5%), средних (69,7%) и больших (17,8%) миоцитов в качестве звеньев единого миобластического дифферона, где малые ГМК рассматривались как камбиальная, средние – как стабильная часть популяции, большие – как конечное звено дифферона [6, 7]. На основании ультрамикроскопии гладких миоцитов мочевой системы и других органов А.Л. Зашихиным и соавт. [3] было высказано предположение, что светлые и темные миоциты находятся в различной фазе функциональной активности и не отличаются между собой по степени дифференцировки. Помимо типичных и атипичных ГМК, в последнее время в верхних мочевых путях стали выделять еще один тип клеток, имеющих отношение к сократительной активности –

клетки, подобные интерстициальным клеткам Кахаля (ИКК-подобные клетки) [8, 9]. ИКК-подобные клетки были обнаружены в почечных лоханках и мочеточниках человека и животных: мелких грызунов, кролей, свиней, коров. Существует предположение, что их функция подобна функции ИКК, генерирующих пейсмекерные медленные волны, управляющие спонтанной моторикой гладких мышц желудка и кишечника. Была предложена новая модель структурно-функциональной организации гладких мышц верхних мочевых путей, в которой рассматриваются две популяции пейсмекерных клеток: атипичные ГМК и ИКК-подобные, которые могут передавать возбуждение типичным ГМК [10]. Разноречивость сведений, на наш взгляд, объясняется тем, что гетероморфность ГМК верхних мочевых путей обусловлена различными факторами: гетерогенностью ГМК – наличием различных субпопуляций ГМК в зависимости от их функционального назначения, степенью зрелости ГМК, а также изменениями, связанными с различными физиологическими состояниями. Целью данного исследования явилось выяснение различий структурно-функциональной организации клеток мышечной оболочки различных отделов верхних мочевых путей беспородных собак с помощью трансмиссионной электронной микроскопии в норме и при уретерогидронефрозе.

Материалы и методы. Ультраструктурные изменения клеток мышечной оболочки верхних мочевых путей были исследованы в норме и при уретерогидронефрозе на 32 беспородных собаках, которые содержались в вольерах по одному животному, получали стандартный корм и воду. Сужение тазового отдела левого мочеточника перевязкой шелковой лигатурой на игле, в 3 раза уступающей по диаметру мочеточнику, с созданием частичной обструкции было произведено 26 собакам. Семь из них были выведены из опыта через 3 недели, 2 – через 3 месяца, 17 была проведена повторная операция – резекция суженного участка и неоимплантация мочеточника в мочевой пузырь с образованием подслизистого туннеля, эти животные были выведены из опыта через 2 недели. Контрольную серию составили 6 собак. Также было изучено влияние прямой

электростимуляции (ЭС) верхних мочевых путей на клетки мышечной оболочки интактного мочеточника и гидроуретера. Экспериментальные исследования на животных проводили в оснащенной соответствующим оборудованием экспериментальной операционной под общим обезболиванием. Все процедуры эксперимента проведены в соответствии с требованиями регуляторных документов, учитывающих принципы Хельсинкской Декларации [11]. Фрагменты стенки почечной лоханки, лоханочно-мочеточникового сегмента (ЛМС) и мочеточника для ТЭМ брали прижизненно и обрабатывали общепринятым методом. Ультратонкие срезы исследовали в электронных микроскопах ЭМВ-100 АК и ЭМ 125 при ускоряющем напряжении 75 кВ. Исследованы 323 электронограммы различных отделов верхних мочевых путей беспородных собак. Проведено исследование соотношения светлых и темных ГМК среди 1822 ГМК, из них 308 ГМК 6 левых почечных лоханок и мочеточников собак контрольной группы и 1514 ГМК левых почечных лоханок и мочеточников собак экспериментальных групп с уретерогидронефрозом.

Результаты и их обсуждение. Среди ГМК мочеточника собаки по электронной плотности цитоплазмы можно выделить темные и светлые клетки (рис. 1-3). Светлые ГМК и их ядра, как правило, имеют больший поперечный размер, отличаются более высокой пиноцитозной активностью цитоплазматических мембран, миофиламенты в них упакованы менее плотно. Темных ГМК больше в тазовой части мочеточника (см. рис. 2), чем в брюшной (см. рис. 1), они образуют больше отростков.

Цитоплазма ГМК почечной лоханки собаки отличается низкой электронной плотностью, поэтому ГМК почечной лоханки можно полностью отнести к светлым мышечным клеткам (рис. 4). Они содержат меньше миофиламентов, чем миоциты мочеточника, характеризуются более развитыми пластинчатым комплексом Гольджи и эндоплазматической сетью.

В ЛМС и проксимальной части мочеточника нами были обнаружены атипичные светлые ГМК, которые так же, как и в лоханке, характеризуются небольшим количеством миофиламентов. Сократительные филаменты образуют узкие пучки, разделенные широкими полями цитоплазмы (рис. 5). В отростках этих ГМК содержится множество пиноцитозных пузырьков и кавеол. Система пиноцитозных пузырьков обеспечивает транспорт ионов кальция, инициирующих сокращение [12, 13]. Исходя из особенностей строения данных ГМК, можно думать, что это ГМК, с которыми связывают возникновение и проведение возбуждения, распространяющегося на другие, типичные, ГМК.

В атипичных миоцитах ЛМС и проксимальной части мочеточника при уретерогидронефрозе отмечаются аналогичные типичным ГМК изменения органелл [14, 15], пучки миофиламентов становятся более широкими, что отражает процессы гипертрофии, протекающие во всех ГМК (рис. 6).

В гидроуретере типичные светлые ГМК на поперечном сечении обычно овальной формы. Темные ГМК на поперечном срезе преимущественно неправильной многоугольной формы, имеют больше цитоплазматических отростков. Темные ГМК охватывают своими отростками светлые, как бы стремясь к образованию контактов с более удаленными подобными им темными миоцитами (рис. 7). В подавляющем большинстве случаев в темных ГМК более высокая плотность миофиламентов. Вместе с тем, встречаются темные ГМК с электронноплотной гиалоплазмой и крайне малым содержанием миофиламентов, которые, однако, не концентрируются в пучки, а равномерно распределены в клетке.

Таким образом, среди светлых ГМК нами было выделено два типа клеток: типичные ГМК – подавляющее большинство светлых ГМК мочеточника, цитоплазма которых равномерно заполнена миофиламентами, и атипичные ГМК – ГМК почечной лоханки, а также небольшое количество клеток ЛМС и проксимальной части

мочеточника, содержащие мало миофиламентов, преимущественно группирующихся в отдельные узкие пучки, с высокой пиноцитозной активностью клеточных мембран. Среди темных ГМК, которые мы также отнесли к типичным, определяются два вида клеток: подавляющее большинство темных миоцитов мочеточника, число которых нарастает в дистальном направлении, содержащих большое количество плотно упакованных миофиламентов, равномерно распределенных в цитоплазме, имеющих достаточно длинные отростки и неправильную форму на поперечном сечении, и редко встречающиеся ГМК с очень темной электронноплотной гиалоплазмой и небольшим количеством разрозненных миофиламентов – на наш взгляд, «стареющие» ГМК.

Результаты исследования соотношения светлых и темных гладких миоцитов представлены в табл. 1. Согласно полученным данным, у контрольных животных в мышечной оболочке почечной лоханки и ЛМС присутствуют только светлые ГМК, в брюшном отделе мочеточника темные ГМК составляют около 7-8%, в тазовом отделе их число удваивается. При уретерогидронефрозе в почечной лоханке темные ГМК не выявляются, в ЛМС их количество достигает 6%, в мочеточнике темные ГМК составляют около 20% всей популяции, независимо от отдела.

Положение о том, что все светлые миоциты являются пейсмекерными клетками, мы считаем неправомерным. На основании морфологических особенностей способными к самовозбуждению можно предположительно считать атипичные светлые ГМК. Исходя из наших наблюдений, они присутствуют не только в почечной лоханке, но в ограниченном количестве встречаются в ЛМС и проксимальной части мочеточника. В средней и дистальной части мочеточника такие ГМК мы не наблюдали. Среди типичных ГМК, возможно, темные поддерживают тонус и механическую прочность гладкомышечного синцития, а светлые включаются в работу при перемещении сократительных перистальтических волн и преимущественно обеспечивают проведение возбуждения и мышечное сокращение. Аргументами в подтверждение этого

предположения может быть большее количество темных ГМК в дистальной части мочеточника, где в процессе уродинамики нередко накапливается более одной порции мочи, прежде чем происходит выброс ее в мочевой пузырь, а также увеличение числа темных ГМК в средней и проксимальной части мочеточника при развитии уретерогидронефроза и нарастании поперечных нагрузок в мочеточнике.

Представляет интерес направление хода миофиламентов в ГМК мочеточника при различных функциональных состояниях. Применение в наших исследованиях ЭС позволило выделить три основных состояния ГМК в зависимости от ориентировки миофибрилл. 1). В ГМК, пребывающих в расслабленном состоянии, миофиламенты ориентированы преимущественно вдоль продольной оси миоцитов, контуры ГМК относительно ровные (см. рис. 1). В сокращенном состоянии ГМК миофиламенты могут быть ориентированы двояким образом. 2). Основная масса миофиламентов располагается в центральной части клетки и продольно ориентирована, актиновые миофиламенты, фиксированные к плотным тельцам клеточной оболочки под углом, способствуют втяжению этих участков плазмолеммы и выпячиванию смежных участков, вследствие чего контуры ГМК приобретают фестончатый вид (рис. 8а). Электронноплотные тельца, к которым фиксированы актиновые миофиламенты, определяются на вогнутой части плазмолеммы, что, как полагают, указывает на сокращенное состояние ГМК [16]. 3). Ориентировка сократительных миофиламентов повторяет волнообразный ход плазмолеммы. Такое состояние наблюдалось в том случае, когда фрагменты мочеточников были прижизненно фиксированы во время работы имплантированного в хроническом эксперименте электростимулятора с постоянной прямой ЭС мочеточника синусоидальными модулированными высокочастотными токами (частота посылок 4 в мин). Контуры ГМК имели в большей или меньшей степени выраженный равномерно-волнообразный вид (рис. 8б). Возможно, последнее является состоянием тонического сокращения. Предполагают, что при сокращении ГМК может происходить скручивание

ядра [16]. На продольном срезе ГМК мочеточника такое ядро выглядит сегментированным. Учитывая ровное состояние клеточной оболочки в некоторых ГМК со скрученными ядрами, которые мы наблюдали после ЭС, можно предположить, что распрямление ядра запаздывает по отношению к расслаблению ГМК (рис. 8в).

В мышечной оболочке почечной лоханки и мочеточника собаки нами были обнаружены клетки, подобные клеткам Кахаля (рис. 9). ИКК-подобные клетки были отделены от ГМК более или менее выраженными прослойками соединительной ткани, на продольном сечении имели чаще веретенообразную, на поперечном сечении – мультиполярную форму, один или несколько длинных отростков, а также короткие тонкие отростки. Эти клетки содержали светлое продолговатое ядро, развитую гранулярную и агранулярную эндоплазматическую сеть, митохондрии, часто локализующиеся в отростках, пиноцитозные пузырьки и кавеолы, промежуточные филаменты. Миозиновые филаменты в них отсутствовали. В почечной лоханке ИКК-подобные клетки содержали большее количество пиноцитозных пузырьков. Располагались ИКК-подобные клетки преимущественно на периферии мышечных пучков, в непосредственной близости от ГМК. В гидроуретере, в мышечной оболочке которого в связи с разрастанием соединительной ткани и метаболическими изменениями ГМК возникают затруднения в передаче возбуждения, ИКК-подобные клетки обнаруживались чаще. Другими авторами, так же как и в наших исследованиях на собаках, при дистальной обструкции мочеточника у крыс было обнаружено увеличение количества ИКК-подобных клеток [17].

Благодарности: Автор выражает благодарность сотрудникам морфологического отдела ЦНИЛ Днепропетровской медицинской академии, принимавшим участие в изготовлении препаратов и создании фотодокументов.

Конфликт интересов: У автора нет конфликта интересов с другими людьми или организациями, которые могли бы повлиять на характер публикуемых данных.

Выводы.

1. Процесс мышечного сокращения в верхних мочевых путях собаки, исходя из проведенных нами исследований, обеспечивается несколькими популяциями клеток: типичными светлыми и темными ГМК с высоким содержанием и равномерным распределением сократительных миофиламентов - "рабочими" ГМК; атипичными светлыми ГМК с низким содержанием миофиламентов, образующих пучки, разделенные полями цитоплазмы, и высокой пиноцитозной активностью клеточных мембран - пейсмекерными ГМК, способными к самовозбуждению; клетками, подобными интерстициальным клеткам Кахаля.

2. Атипичные светлые ГМК присутствуют в почечной лоханке, отдельные атипичные ГМК обнаруживаются в ЛМС и проксимальной части мочеточника. После операций на почечной лоханке и ЛМС они могут играть роль латентных пейсмекеров.

3. На основании особенностей ультраструктуры и взаимного расположения ГМК в мочеточнике в норме и при уретерогидронефрозе можно предположить, что типичные темные ГМК поддерживают тонус гладкомышечного синцития, а типичные светлые ГМК преимущественно обеспечивают мышечное сокращение. Численность темных ГМК больше в дистальной части мочеточника, чем в проксимальной, и увеличивается во всех его отделах при уретерогидронефрозе.

4. В верхних мочевых путях собаки присутствуют ИКК-подобные клетки, которые могут иметь отношение к осуществлению мышечного сокращения, участвуя в передаче возбуждения между ГМК или являясь посредниками в нейротрансмиссии, аналогично интерстициальным клеткам Кахаля в желудочно-кишечном тракте, что еще предстоит выяснить в дальнейших исследованиях.

Литература

1. 1. Gosling J.A. Morphological evidence that the renal calyx and pelvis control ureteric activity in the rabbit / J.A. Gosling, J.S. Dixon // *Am. J. Anat.* – 1971. – V.13. – P. 393-408.
2. Hanna M.K. Ureteral structure and ultrastructure. Part I. The normal human ureter / M.K. Hanna, R.D. Jeffs, J.M. Sturgess, M. Barkin // *J. Urol.* – 1976. – V. 116. – P. 718.
3. Зашихин А.Л., Селин Я., Агафонов Ю.В. Структурно-функциональная организация темных и светлых гладких миоцитов в составе мускулатуры висцеральных органов / А.Л. Зашихин, Я. Селин, Ю.В. Агафонов // *Морфология.* – 2004. – № 5. – С. 41-45.
4. Dixon J.S. The musculature of the human renal calices, pelvis and upper ureter / J.S. Dixon, J.A. Gosling // *J. Anat.* – 1982. – V. 135(Pt 1). – P. 129–137.
5. Klemm M.F. Identification of the cell underlying pacemaker activity in the guinea-pig upper urinary tract / M.F. Klemm, B. Exintaris, R.G. Lang // *J. Physiology.* – 1999. – V. 519, № 15, Pt. 3. – P. 867-884.
6. Зашихин А.Л. Реактивная перестройка гладкой мышечной ткани мочеточника при развитии пузырно-мочеточникового рефлюкса у детей / А.Л. Зашихин, Я. Селин, Е.Н. Башилова, А.В. Архипов // *Архив патологии.* – 2001. – №5. – С. 19-23.
7. Зашихин, А.Л. Реактивная трансформация гладкой мышечной ткани мочевыделительной системы человека при некоторых заболеваниях (структурно-метаболические аспекты организации) / А.Л. Зашихин, Е.Н. Башилова, Я. Селин, А.В. Архипов // *Урология.* – 2006. – № 6. – С.13-18.
8. Metzger R. Cajal-like cells in the upper urinary tract: comparative study in various species / R. Metzger, T. Schuster, H. Till, F.E. Franke, H.G. Dietz // *Pediatr. Surg. Int.* – 2005. – V. 21, N 3. – P. 169-174.

9. Rumessen J.J. Ultrastructure of Cajal-like interstitial cells in the human detrusor / J.J. Rumessen, H. Rasmussen, A.A. Hansen, F. Smedts, T. Horn // *Cell Tissue Res.* – 2009. – V. 335, N 3. – P. 517-527.
10. Lang R.J. Interstitial cell of Cajal-like cells in the upper urinary tract / R.J. Lang, M.F. Klemm // *J. Cell. Molec. Medicine.* – 2007. – V. 9, № 3. – P. 543-556.
11. Guiding principles for research involving animals and human beings // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2002. – Vol. 283. – P. 281-283.
12. Alberts B. *Molecular Biology of the Cell* / B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter. – New York: Garland Science, 2002. – 455 p.
13. Bonifacino J.S. The mechanisms of vesicle budding and fusion / J.S. Bonifacino, B.S. Glick // *Cell.* – 2004. – V. 116. – P. 153.
14. Квятковская Т.А. Ультраструктурные изменения лейомиоцитов мочеочника при уретрогидронефрозе и после уретроцистостомии с последующей электростимуляцией в эксперименте / Т.А. Квятковская // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія.* – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 56-59.
15. Квятковская Т.А. *Строение и функция верхних мочевых путей* / Т.А. Квятковская. – Днепропетровск: РИА «Днепр-VAL», 2009. – 416 с.
16. Horowitz A. Mechanisms of smooth muscle contraction / A. Horowitz, C.B. Menice, R. Laporte, K.G. Morgan // *Physiol. Rev.* – 1996. – V. 76. – P. 96.
17. Kuzgunbay B. The effects of ureteral obstruction on Cajal-like cells in rats / B. Kuzgunbay, F. Doran, Y. Bayazit, T. Turunc, N. Satar, A.A. Kayis // *J. Ped. Urol.* – 2008. – V. 5, № 4. – P. 269-273.

Таблица 1

Соотношение темных и светлых ГМК в различных отделах верхних мочевых путей
собаки в контроле и при уретерогидронефрозе (в %)

Отделы верхних мочевых путей	Контроль		Уретерогидронефроз	
	Темные	Светлые	Темные	Светлые
Лоханка	0	100	0	100
ЛМС	0	100	6,1	93,9
Проксимальная часть мочеточника	7,1	92,9	22,4	77,6
Средняя часть мочеточника	8,5	91,5	23,1	76,9
Дистальная часть мочеточника	17,4	82,6	20,5	79,5

Подписи к рисункам

Рис. 1. Светлые типичные ГМК в брюшном отделе мочеточника собаки (контроль). М – митохондрии. ТЭМ. Ув. 7000.

Рис. 2. Светлые и темные типичные ГМК мочеточника собаки в тазовом отделе (контроль). ТЭМ. Ув. 7000.

Рис. 3. Межклеточный обмен между светлой и темной ГМК мочеточника собаки, перемещение гранул из одной клетки в другую. ▲ - пиноцитозные пузырьки, □ - кавеолы. ТЭМ. Ув. 36000.

Рис. 4. ГМК почечной лоханки собаки. Низкая электронная плотность цитоплазмы, развитые комплекс Гольджи (КГ), гранулярная сеть (ГЭС), малое количество миофиламентов. М – митохондрии, Я – ядро. Ув. 19000.

Рис. 5. Атипичная ГМК лоханочно-мочеточникового сегмента собаки. (контроль). Миофиламенты (МФ) образуют узкие пучки. ТЭМ. Ув. 8700.

Рис. 6. Атипичная ГМК в проксимальной части дилатированного мочеточника собаки. Миофиламенты образуют отдельные пучки. ТЭМ. Ув. 6400.

Рис. 7. ГМК дилатированного мочеточника собаки в брюшном отделе. Темные ГМК на поперечном сечении неправильной многоугольной формы, образуют длинные отростки. М – митохондрии, Л – лизосома. Ув. 7500.

Рис. 8. ГМК мочеточника собаки в сокращенном состоянии. Ув. а, б – 7000, в – 9000.

Рис. 9. ИКК-подобные клетки рядом с ГМК в дилатированном мочеточнике собаки. Ув. 6500.