

## Патологические изменения глиальных клеток в энтеральной нервной системе толстой кишки при хроническом медленно-транзитном запоре

Е.И. Чумасов<sup>1,3</sup>, Н.А. Майстренко<sup>2</sup>, П.Н. Ромашенко<sup>2</sup>, В.Б. Самедов<sup>2</sup>,  
Е.С. Петрова<sup>1</sup>, Д.Э. Коржевский<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

<sup>2</sup> Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Минобороны России

194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины

196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5

### Резюме

Вопросы, касающиеся природы глиальных клеток энтеральной нервной системы и их участия в патогенезе болезней ЖКТ, остаются малоизученными. Цель работы – сравнительно-морфологическое изучение глиальных клеток в ганглиозных сплетениях энтеральной нервной системы и оценка состояния нейроглиальных взаимоотношений при хроническом медленно-транзитном запоре (ХМТЗ) с помощью иммуногистохимических методов.

**Материал и методы.** Работа выполнена на резекционном материале, полученном на кафедре факультетской хирургии им. С.П. Федорова Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова при проведении плановых хирургических операций. Объектом исследования служили фрагменты сигмовидной и ободочной кишки, полученные в результате оперативного вмешательства по поводу ХМТЗ (пять случаев, женщины в возрасте 37–40 лет). Исследование проводили с применением иммуногистохимических глиальных маркеров (GFAP, белок S100β и др.).

**Результаты и их обсуждение.** В межмышечном ганглиозном сплетении толстой кишки обнаружены два типа глии. Астроцитоподобный тип имеет сходство с нейроглией ЦНС, нейролеммоцитарный – с глией автономной нервной системы. Установлено, что астроцитоподобная глиа находится исключительно в ауэрбаховом ганглиозном сплетении, а нейролеммоциты – во всех иннервируемых тканях стенки кишки. При ХМТЗ в ауэрбаховом сплетении во всех случаях обнаружены реактивные, дистрофические и дегенеративные изменения нейроцитов и глиальных элементов. В нескольких случаях выявлены деструктивные изменения также в нейромышечных терминальных сплетениях подслизистой и слизистой оболочек, сопровождающиеся интерстициальным отеком и воспалительной моноцитарной реакцией, а также лейкоцитарной инфильтрацией слизистой оболочки. **Заключение.** На основании полученных результатов авторы предлагают отнести ХМТЗ к разряду нейродегенеративных заболеваний.

**Ключевые слова:** ободочная, сигмовидная кишка человека, хронический медленно-транзитный запор, глиа, белок S100β, GFAP, иммуногистохимия.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», № документа 122020300199-5.

**Автор для переписки:** Чумасов Е.И., e-mail: ualct@mail.ru

**Для цитирования:** Чумасов Е.И., Майстренко Н.А., Ромашенко П.Н., Самедов В.Б., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Патологические изменения глиальных клеток в энтеральной нервной системе толстой кишки при хроническом медленно-транзитном запоре. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):191–202. doi: 10.18699/SSMJ20230624

## Pathological changes of glial cells in the enteric nervous system of the colon with chronic slow-transit constipation

E.I. Chumasov<sup>1,3</sup>, N.A. Maistrenko<sup>2</sup>, P.N. Romashchenko<sup>2</sup>, V.B. Samedov<sup>2</sup>,  
E.S. Petrova<sup>1</sup>, D.E. Korzhevskii<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Experimental Medicine

197022, Saint-Petersburg, Akademika Pavlova st., 12

<sup>2</sup> S.M. Kirov Military Medical Academy

194044, Saint-Petersburg, Akademika Lebedeva st., 6

<sup>3</sup> Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine

196084, St. Petersburg, Chernigovskaja st., 5

## Abstract

The origin, development and differentiation of enteric nervous system neuroglia and its involvement in the pathogenesis of gastrointestinal diseases and neurodegenerative diseases have been little studied. **Aim** of this work is a comparative morphological study of glial cells in the ganglionic plexuses of the enteric nervous system and analysis of neuroglial relationships in chronic slow-transit constipation using immunohistochemical methods. **Material and methods.** Resection material obtained at the Department of Faculty Surgery, S.P. Fedorov Faculty of Surgery of S.M. Kirov Military Medical Academy during planned surgical operations was used. The objects of the study were fragments of the sigmoid and colon obtained as a result of surgery for chronic slow-transit constipation (five cases, women aged 37–40 years). The study was carried out using immunohistochemical glial markers (GFAP, S100 $\beta$  protein, etc.). **Results.** Two types of glia were found in the myenteric ganglionic plexus of the large intestine: astrocyte-like and neurolemmocyte. The astrocyte-like type is similar to the neuroglia of the central nervous system, the neurolemmocyte type is similar to the glia of the autonomic nervous system. It has been established that astrocyte-like glia is found only in the Auerbach ganglionic plexus, while neurolemmocytes are found in all innervated tissues of the intestinal wall. Reactive, dystrophic and degenerative changes in neurocytes, glial elements, agangliogenesis in the Auerbach plexus were found in all cases of chronic slow-transit constipation. Destructive changes in the neuromuscular terminal plexuses, interstitial edema and inflammatory monocytic reaction and leukocyte infiltration in the intestinal mucosa and intestinal submucosa, found in several cases. **Conclusions.** The results obtained allow classifying chronic slow-transit constipation as a neurodegenerative disease.

**Key words:** human colon, sigmoid colon, chronic slow-transit constipation, glia, S100 $\beta$  protein, GFAP, immunohistochemistry.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Financing.** The study was carried out within the framework of the state assignment of the Federal State Budgetary Institution Institute of Experimental Medicine, document number 122020300199-5.

**Correspondence author:** Chumasov E.I., e-mail: ua1ct@mail.ru

**Citation:** Chumasov E.I., Maistrenko N.A., Romashchenko P.N., Samedov V.B., Petrova E.S., Korzhevskii D.E. Pathological changes of glial cells in the enteric nervous system of the colon with chronic slow-transit constipation. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):191–202. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230624

## Введение

Долгое время считалось, что основные функции нейроглии связаны с поддержанием и обеспечением жизнедеятельности нейронов. К настоящему времени доказано, что нейроглия многофункциональна [1–3]. Продолжают изучаться морфологические и функциональные особенности нейроглии животных и человека, уточняется их классификация [4]. Не выясненными до конца остаются вопросы, касающиеся ее происхождения, развития и дифференцировки в онтогенезе, а также участия глии в развитии нейродегенеративных заболеваний. За последние десятилетия в литературе наблюдается повышенный интерес к одному из малоизученных отделов автономной нервной системы (наряду с парасимпатическим и симпатическим), к так называемому «метасимпатическому», или энтеральному, отделу нервной системы (ЭНС) [5–7]. ЭНС состоит из 150 млн нейронов различного типа, выраба-

тывающих множество нейромедиаторов и нейропептидов. Эти особенности побудили назвать ЭНС «вторым мозгом» [8–11]. А в недавнем обзоре подчеркнуто, что ЭНС можно считать «первым (а не вторым) мозгом» [6], поскольку в филогенезе ЭНС происходит раньше нервной трубки. Предположительно «первый мозг» перешел к позвоночным животным в филогенезе от кольчатых червей – первых целомических животных, нервная система которых представлена брюшной нервной цепочкой. В настоящее время много нерешенных вопросов остается в области изучения глии ЭНС, ее происхождения, развития и морфологии [4, 12]. Эти исследования имеют важное значение для гастроэнтерологии при изучении широко распространенных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) животных и человека, таких как синдром раздраженного кишечника, язвенный колит, хронические запоры, включая хронический медленно-транзитный

запор (ХМТЗ) [13–17]. В работах, посвященных изучению кишки при ХМТЗ, основное внимание, как правило, уделяется нервным структурам ганглиозных сплетений, относительно изменений глиальных элементов имеются лишь единичные исследования [18, 19].

Цель настоящей работы – сравнительно-морфологическое изучение глиальных клеток в ганглиозных сплетениях ЭНС и оценка состояния нейроглиальных взаимоотношений при ХМТЗ с помощью иммуногистохимических методов.

## Материал и методы

Работа выполнена на резекционном материале, полученном на кафедре факультетской хирургии им. С.П. Федорова Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Объект исследования – фрагменты сигмовидной и ободочной кишки, полученные в результате оперативного вмешательства по поводу ХМТЗ, с согласия пациентов на исследования материала (пять случаев, женщины в возрасте 37–40 лет). Основу первичного обследования пациентов составляло выяснение жалоб, сбор анамнестических сведений, проведение объективного обследования, лабораторных анализов крови и кала, инструментальных исследований толстой кишки, направленных на оценку ее эвакуаторной функции. После установки диагноза ХМТЗ пациентам назначалась комплексная схема консервативного лечения в соответствии с действующими на момент обследования клиническими рекомендациями, направленная на нормализацию частоты дефекации и регресс явлений толстокишечной дискинезии [20]. В связи с рефрактерностью заболевания ко всем линиям фармакологической коррекции формулировались показания к его хирургическому лечению. Объем резекции ободочной кишки определяли на основе данных хронометрии рентгенконтрастных маркеров. При сегментарном типе тяжелой формы ХМТЗ выполняли левостороннюю гемиколэктомию, при распространенном – субтотальную резекцию ободочной кишки с формированием асцендо-ректоанастомоза [21].

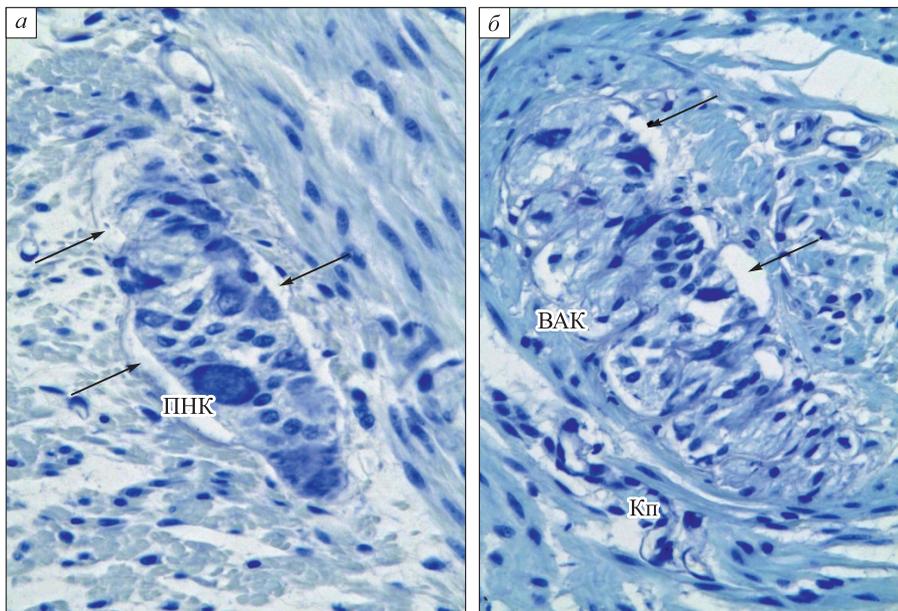
Резекционный материал фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида. После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации и ксилоле материал заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной 5 мкм. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ Институт экспериментальной медицины (протокол № 2/22 от 06.04.2022). Иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание проводили на парафиновых срезах. Для исследования клеток глии периферической нервной системы применяли ИГХ-реакции на белок S100 $\beta$ , глиальный

фибрилярный кислый белок (GFAP) и глутаминсинтетазу (GS). В качестве первичных антител использовали кроличьи поликлональные антитела к белку S100 $\beta$ . Для выявления GFAP и GS использовали моноклональные мышинные антитела (соответственно клон SPM 507, Spring Bioscience, США, и клон GS-6, Chemicon, США). Для выявления нервных волокон применяли поликлональные кроличьи антитела к белку PGP 9.5 (Spring Bioscience) и моноклональные кроличьи антитела к синаптофизину (клон SP11, Spring Bioscience). В качестве вторичных реагентов использовали реактивы из набора Reveal Polyvalent HRP DAB Detection System (SPD-015, Spring Bioscience, США). Часть препаратов окрашивали толуидиновым синим по Нисслю и астровым синим. Для осуществления отрицательного контроля иммуногистохимических реакций на часть срезов вместо раствора первичных антител наносили их разбавитель (Dako, Дания; в настоящее время Agilent, США). Анализ гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа Leica DM 750 (Leica, Германия) и цифровой камеры Leica ICC 50 (Leica).

## Результаты

С помощью окраски толуидиновым синим по Нисслю на препаратах ободочной и сигмовидной кишки хорошо идентифицируются два ганглиозных сплетения: Ауэрбаха, или межмышечное (МС), и Мейснера, или подслизистое (ПС). В большинстве исследованных случаев выявлены реактивные, дистрофические и тяжелые дегенеративные изменения ганглиозных клеток (рис. 1, *а*), а также гибель или выпадение нейронов (рис. 1, *б*). Для нейронов с реактивными изменениями характерны ацентрично расположенные ядра и разная степень выраженности хроматофильной реакции. Дистрофически измененные нервные клетки имеют слабо проявляющиеся контуры ядер и гомогенную цитоплазму с низкой хроматофильностью. У некоторых из них сморщенный вид, интенсивно окрашенная цитоплазма и гиперхромное ядро. Встречаются нейроны с признаками тяжелой патологии – «клетки-тени», клетки без видимых цитоплазматических органелл и ядра. Во многих ганглиях наблюдается гибель нейронов (аганглиоз).

Наряду с сохранившимися интактными и патологически измененными нейронами в ганглиях часто присутствует значительное число глиальных клеточных элементов, которые отличаются от нейронов меньшими размерами, гиперхромными ядрами, неравномерностью или плотностью распределения. Концентрация глиоцитов наблюдается вокруг перикарионов патоло-



**Рис. 1.** Фрагменты ганглиев из миентерального ганглиозного сплетения в кишке больных ХМТЗ со следами интерстициального тканевого отека. а – ганглий с реактивно и дистрофически измененными нейронами; б – вакуолизированные глиоциты и несколько пикнотичных нейроцитов; ПН – пикнотичные нервные клетки; ВАК – вакуолизированные астроцитоподобные клетки; Кп – капилляр; стрелки – лимфатические сосуды. Окраска толуидиновым синим по Нисслю,  $\times 400$

**Fig. 1.** Fragments of ganglia from the myenteric ganglionic plexus in the intestines of patients with chronic slow-transit constipation with evidence of interstitial tissue edema. а – ganglion containing neurons which reactive and dystrophic changes; б – vacuolized gliocytes and several pyknotic neurocytes; ПН – pyknotic nerve cell; ВАК – vacuolated astrocyte-like cells; Кп – capillary; arrows – lymphatic vessels. Toluidine blue staining,  $\times 400$

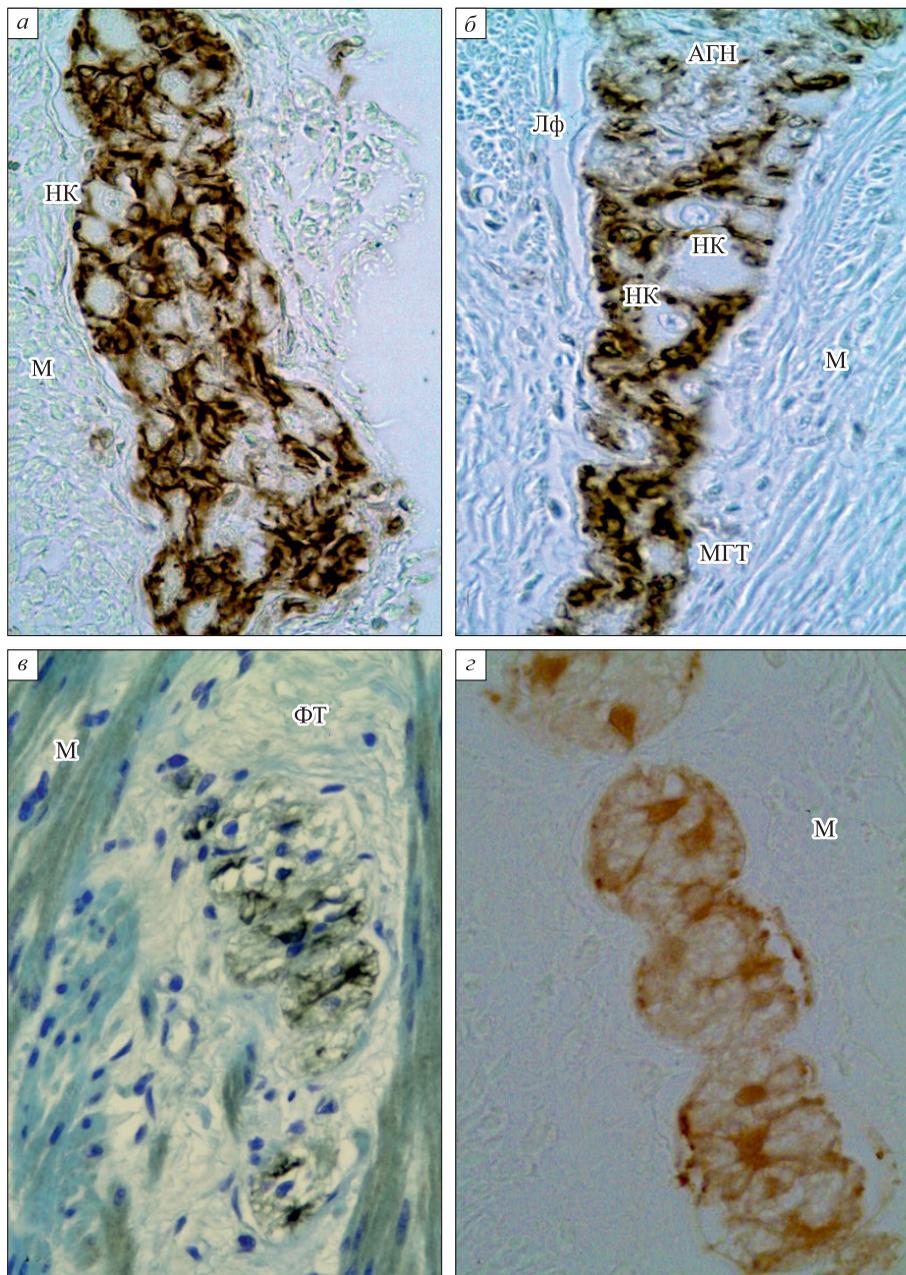
гически измененных нейронов. Эти картины отражают проявления процессов глиоза, нарушения нейрон-глиальных взаимоотношений. Однако следует отметить, что, используя метод окраски толуидиновым синим по Нисслю, затруднительно идентифицировать типы глиальных клеток в ЭНС. Для выяснения морфофункциональных особенностей разных типов глиальных клеток мы использовали ИГХ-окрашивание на GFAP, GS и S100 $\beta$ , маркеры, применяемые в исследованиях, посвященных изучению глии центральной и периферической нервной системы.

С помощью ИГХ-реакции на GFAP (белок промежуточных филаментов, являющийся маркером астроцитов) в ганглиях МС избирательно выявлены глиальные клетки, обладающие ярко выраженной иммунореактивностью и морфологическим сходством с астроцитами ЦНС (рис. 2, а, б). В зависимости от функционального состояния и положения в ганглии они имеют различную форму тела (округлую, веретеновидную, треугольную или неправильную), размеры (9–25 мкм) и снабжены короткими отростками разной толщины. Эти клетки легко идентифицируются по черно-коричневой окраске тела, относительно крупному пузырьковидному светлому ядру и гомогенной структуре цитоплазмы (см. рис. 2, а, б). На основании

этих морфологических признаков, большого объема цитоплазмы и экспрессии GFAP мы считаем правомерным в дальнейшем называть эти клетки астроцитоподобными (АПК).

Часть АПК в ганглии располагается плотными группами, многие из которых окружают тела ганглиозных нервных клеток и находятся с ними и их отростками в тесных взаимоотношениях, другая часть АПК занимает периферию узла на границе с интерстициальными фибробластами и мышечной тканью. Группы АПК попеременно с мелкими нейроцитами прослеживаются также в межганглионарных тяжах МС (рис. 2, б). В некоторых местах удавалось проследить, что отростки АПК контактируют не только с телами нейронов, но и с эндотелием лимфатических капилляров, окружающих и разделяющих эти узлы. Следует отметить, что в ганглиях и в тяжах МС кровеносные сосуды встречаются редко, чаще они окружены сетью лимфоидных капилляров.

Наряду с описанными изменениями нервных клеток в ганглиях МС нередко можно видеть различные картины патологических изменений со стороны глии (рис. 2, в, г), особенно в очагах нейродегенерации и массовой гибели нейронов (см. рис. 1, б; рис. 2, в). Часть глиальных клеток находится в состоянии реактивных изменений, ста-



**Рис. 2.** Глиальные АПК в ганглиях межмышечного сплетения. а, б – распределение реактивных АПК; в – очаг реактивных и вакуолизированных АПК в окружении фиброзной ткани; г – цепочечные шарообразные структуры из АПК на месте аганглионарного фрагмента ауэрбахова сплетения. НК – нейрциты; МГТ – межганглионарный тяж; М – мышцы; Лф – лимфатический капилляр; АГН – аганглионарный участок; ФТ – фиброзная ткань. Иммуногистохимическая реакция на GFAP (а-в) и глутаминсинтетазу (г), подкраска толуидиновым синим (в),  $\times 400$

**Fig. 2.** Astrocyte-like glial cells in the ganglia of the intermuscular plexus. а, б – distribution of reactive astrocyte-like cells; в – reactive and vacuolated astrocyte-like cells surrounded by fibrous tissue; г – spherical structures of astrocyte-like cells at the site of an aganglionic fragment of the Auerbach's plexus. НК – neurocytes; МГТ – interganglionic bundle; М – muscles; Лф – lymphatic capillary; АГН – aganglionic area; ФТ – fibrous tissue. Immunohistochemical reaction to GFAP (а-в) and to glutamine synthetase (г), counterstaining with toluidine blue (в),  $\times 400$

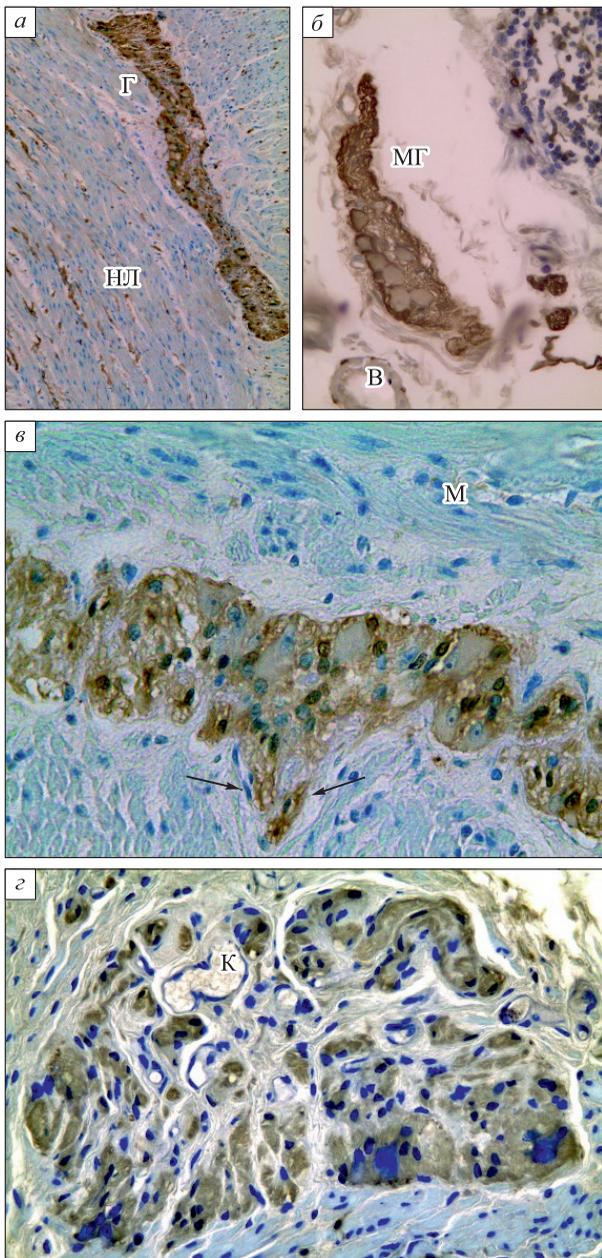
дии вакуолизации, вторая часть имеет гипертрофированный вид GFAP-иммунореактивных тел и отростков, третья представлена сильно сморщенными клетками или находится на стадии клеточного распада (см. рис. 2, в). В последнем случае

в ганглиях видны иммунореактивные глыбки и фрагменты клеток. Такие картины в большей или меньшей степени встречаются практически во всех исследованных случаях ХМТЗ.

С помощью ИГХ-реакций на GFAP и GS в аганглиозных участках МС выявлены образования шаровидной формы размером до 55–70 мкм, состоящие из вакуолизированных глиоцитов. При использовании ИГХ-реакции на GS видно, что в каждом «шаре» находится по 2–3 окрашивающихся в светло-коричневый цвет АПК. В некоторых случаях мы наблюдали подобного вида цепочки «шаров» в запустевших ганглиях на значительном протяжении в пределах поперечного среза (см. рис. 2, б). Обращает на себя внимание тот факт, что АПК заполнены жидким содержимым, вероятно, белковым экссудатом. Предположительно, они находятся в состоянии тургора и сформировались в результате отека окружающих тканей. В исследуемом мате-

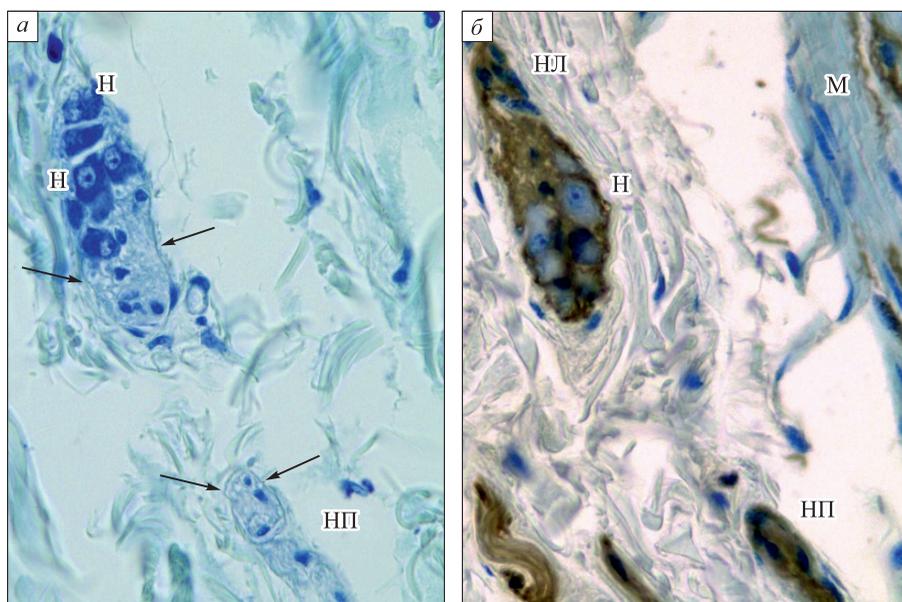
риале можно встретить ганглии МС как с запустевшими в результате гибели клеток участками, с преобладанием вакуолизированных астроцитов, так и участки с интактными и патологически измененными нейронами и глией одновременно. ИГХ-анализ исследованного материала показал, что присутствие АПК ограничено ауэрбаховым сплетением, за его пределами они не встречаются.

С помощью ИГХ-реакции на специфический белок S100 $\beta$  был идентифицирован второй тип глии, клеточные элементы которого обнаружены практически во всех тканях стенки кишки: в ганглиях МС и ПС, в составе внутримышечных, периваскулярных сплетений, в тканях слизистой оболочки, а также в вегетативных нервах, проходящих в стенку данных отделов кишки извне (рис. 3). Для S100 $\beta$ -позитивных глиальных клеток характерен ряд особенностей. Границы тел и отростков в отличие от АПК неразличимы, четко видны только ядра. Клетки располагаются диффузно в нейропиле ганглиев, имеют округлую, продолговатую, палочковидную форму, окрашены в черно-коричневый цвет, имеют меньшие размеры (7–10 мкм) по сравнению с АПК. В связи с тем что межклеточные границы этих клеток не выявляются при световой микроскопии, цитоплазма их представляет собой «синцитиальную» структуру, гомогенно окрашенную в светло-коричневые тона. По многим признакам они сходны с клетками автономной нервной системы (сателлитами нейроцитов и шванновскими клетками немиелинизированных волокон), в связи с



**Рис. 3.** Нейролеммоциты в стенке толстой кишки человека. а, в – в ганглиях мие enterического сплетения; б – в ганглии подслизистого сплетения; г – в межганглионарном нервном стволике; Г – межмышечные ганглии; МГ – микроганглии и нервные пучки в отечной соединительной ткани в ПС; НЛ – тяжи НЛЦ в терминальном нейромышечном сплетении; В – венозный сосуд; М – мышцы, К – капилляры в нервном стволике; стрелки – начало выхода нейроглиального волокнистого пучка в мышечную ткань. ИГХ-реакция на белок S100 $\beta$ , подкраска толуидиновым синим,  $\times 100$  (а, б);  $\times 400$  (в, г)

**Fig. 3.** Neurolemmocytes in the wall of the human colon. а, в – in the ganglia of the myenteric plexus; б – in the ganglion of the submucosal plexus; г – in the interganglionic nerve trunk; Г – intermuscular ganglia; МГ – microganglion and nerve bundles in connective tissue in submucosal plexus; НЛ – neurolemmocytes in the terminal neuromuscular plexus; В – vein; М – muscles; К – capillaries in the nerve stem; arrows indicate the exit start point of the neuroglial fibers into the muscle tissue. Immunohistochemical reaction to S100 $\beta$  protein, toluidine blue staining,  $\times 100$  (а, б);  $\times 400$  (в, г)



**Рис. 4.** Микроганглий ПС в окружении пучков коллагеновых волокон в отечной соединительной ткани. НЛ – нейролемоциты, Н – нейроны, М – мышечный слой, НП – нервный пучок; стрелки – периневрий. Окраска толуидиновым синим (а), иммуногистохимическая реакция на белок S100β (б), ×400

**Fig. 4.** Microganglion of the submucosal plexus surrounded by collagen fibers in connective tissue. НЛ – neurolemocytes, Н – neurons, М – muscle layer, НП – nerve bundle; arrows – perineurium. Toluidine blue staining (a), immunohistochemical reaction to S100β protein (b), ×400

этим авторы считают правомочным называть их нейролеммоцитами (НЛЦ).

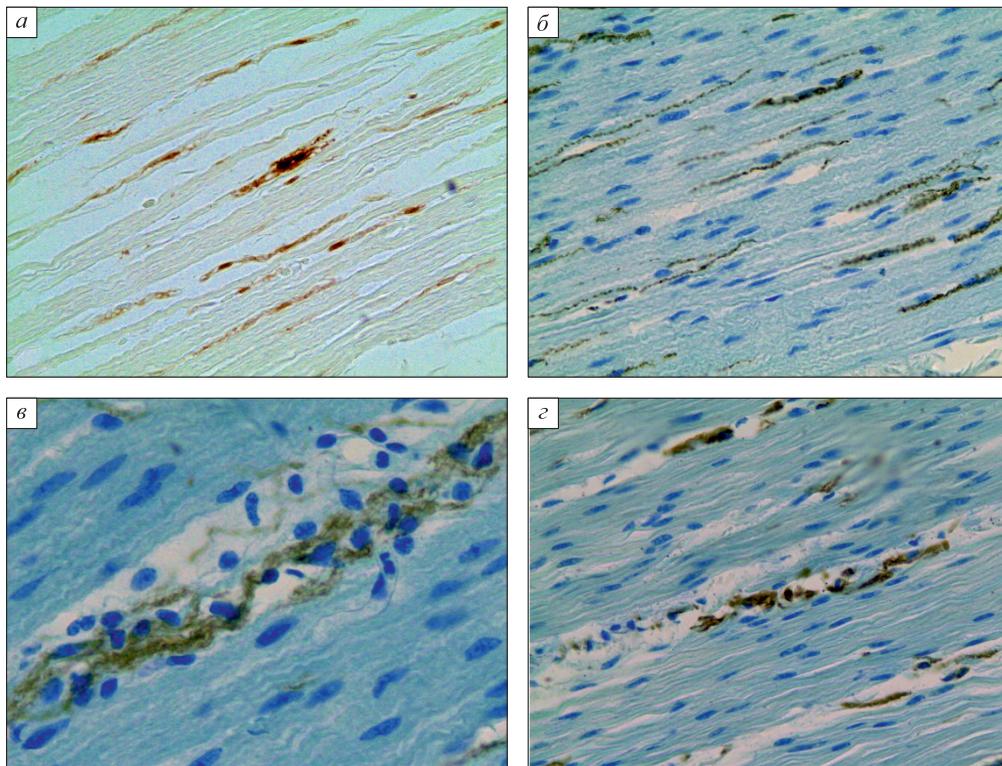
НЛЦ локализуются в ганглиях МС вместе с нейронами и АПК среди массы густой сети их отростков и варикозных терминалей и составляют общий нейропил ганглиев. Они наблюдаются также в составе пучков и тяжелой немиелинизированных аксонов, входящих и выходящих из этого ганглиозного сплетения (см. рис. 3, в, з). В микроганглиях ПС присутствуют только НЛЦ, отсутствуют АПК. Часть НЛЦ представлена сателлитами нейронов, другая часть – вспомогательными клетками нервных пучков.

Ганглиозные сплетения отличаются не только по составу глии, но и по тканевому окружению. Ганглии ауэрбахова сплетения находятся в тесной взаимосвязи с гладкомышечными клетками мышечной оболочки стенки кишки, а микроганглии мейснера сплетения располагаются в окружении соединительной ткани и многочисленных коллагеновых волокон. Кроме того, микроганглии и пучки нервных волокон ПС отграничены от соединительной ткани еще и специализированным тканевым барьером – периневральными эпителиоморфными футлярами (рис. 4, а, б). Эти морфологические признаки свидетельствуют о том, что оба ганглиозных сплетения отличаются не только по клеточной и тканевой организации, но и по выполняемым функциям. Важно отметить,

что в изученном нами материале нервные клетки микроганглиев ПС менее подвержены тяжелым патологическим изменениям по сравнению с таковыми МС.

В ганглиях межмышечного сплетения НЛЦ, как и АПК, находятся в сложных взаимоотношениях с нервными структурами. В их «синцитиального» вида цитоплазме заключены различные нервные аппараты (рис. 5). Можно видеть профили плотно упакованных в виде пакетов и цепочек многочисленных тончайших безмиелиновых варикозных аксонов (см. рис. 5, в). При больших увеличениях во многих участках нейропила можно отличить цепочки профилей из тонких ламеллярных отростков цитоплазмы НЛЦ, располагающихся вокруг синаптических бутонов, на местах расположения перичеселлюлярных синапсов (нервных окончаний), связанных с перикарионами и дендритами нейронов ганглиозного сплетения. Создается впечатление, что все нервные структуры ганглия в большей или меньшей степени заключены в тяжи НЛЦ и окружены этими обкладочными глиальными клетками.

Из ганглиев МС в окружающие мышечные ткани концентрического и продольного слоев мышечной оболочки выходят различной толщины нервно-волокнистые пучки и тяжи (см. рис. 5, з). Между мышечными пучками они делятся и образуют густую узкопетлистую сеть, состоя-



**Рис. 5.** S100β-позитивные глиальные клетки (НЛЦ) мышечных синаптических сплетений (а), синаптофизин-позитивные варикозные аксоны в концентрическом слое мышечной оболочки толстой кишки человека (б); воспалительные инфильтраты и экссудативный отек вокруг ремаковских волокон (в) и продукты распада ремаковских тяжей (г). ИГХ-реакция на белок S100β (а), синаптофизин (б), белок PGP 9.5 (в, г), ×400

**Fig. 5.** S100β+ glial cells (neurolemmocytes) of muscular synaptic plexuses (a), synaptophysin+ varicose axons in the concentric layer of the muscular layer of the human colon (б); inflammatory infiltrates and exudative edema around the Remakov fibers (в) and decay products of the Remakov bands (г). Immunohistochemical reaction to S100β protein (a), synaptophysin (б), PGP 9.5 protein (в, г), ×400

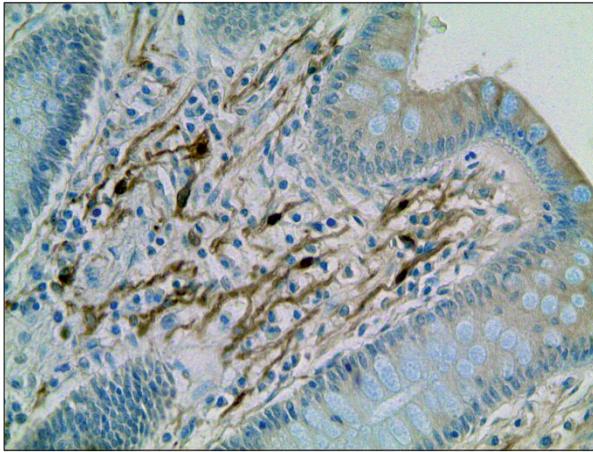
щую из ремаковских тяжей НЛЦ и заключенных в них тончайших варикозных аксонов. Последние представляют собой терминальную сеть отростков PGP-позитивных холинергических эфферентных нейронов ганглиев МС – нейромышечные синапсы дистантного типа *en passant*. Толщина большинства ремаковских тяжей, заполненных пакетами варикозных аксонов, составляет от 1–2 до 20 мкм и более (рис. 6). Описанные терминальные сплетения при ХМТЗ нередко в той или иной степени подвергаются деструкции. Так, например, патологические изменения, наблюдающиеся со стороны терминальных нервно-мышечных сплетений продольного и концентрического слоев мышечной оболочки, могут сопровождаться гибелью обменных капилляров, воспалением, развитием интерстициального отека, набуханием ремаковских тяжей и их дегенерацией (см. рис. 6).

Важно подчеркнуть, что терминальные сети из ремаковских тяжей НЛЦ и варикозных аксонов участвуют в иннервации не только гладкомышечных клеток миентеральной оболочки, мышечной

пластинки слизистого сплетения, периваскулярных сплетений, но и тканей слизистой оболочки. В слизистой оболочке S100β-позитивные НЛЦ вместе с заключенными в нее варикозными аксонами формируют густую узкопетлистую трехмерную субэпителиальную синаптическую сеть (см. рис. 6).

### Обсуждение

Хронический запор представляет собой важную медико-социальную проблему во всех странах мира и является инвалидизирующим заболеванием. Его распространенность у взрослых в мире оценивается в 16 %, а в индустриально развитых странах – от 30 до 40 % [20, 22]. Среди всех причин, приводящих пациентов к колопроктологу или гастроэнтерологу, хронический запор уступает лишь геморрою. Клинические проявления заболевания у 15–50 % из этих больных развиваются вследствие замедленного транзита кишечного содержимого по ободочной кишке в связи с нарушением ее пропульсивной функции



**Рис. 6.** Нейролеммоциты субэпителиальной терминальной сети в слизистой оболочке толстой кишки человека. ИГХ-реакция на белок S100 $\beta$ . Докраска толуидиновым синим,  $\times 400$

**Fig. 6.** Neurolemmocytes of the subepithelial terminal network in the mucosa of the human colon. Immunohistochemical reaction to S100 $\beta$  protein. Toluidine blue staining,  $\times 400$

[21, 23]. При всем многообразии существующих фармакологических и лабораторно-инструментальных возможностей нет исчерпывающего понимания этиопатогенеза ХМТЗ – одной из форм хронического запора, и на сегодняшний день ни один из предложенных методов лечения заболевания не обладает 100%-й эффективностью [21, 24]. Вопросы лечения больных ХМТЗ по настоящее время остаются предметом дискуссии и, безусловно, подлежат дальнейшему обсуждению.

Ранее показано, что при ХМТЗ наблюдаются патологические изменения в ЭНС [17], которая управляет всеми желудочно-кишечными функциями, включая процесс пищеварения, регуляцию электролитного состояния среды и секрецию слизи, кровотока, кишечную проницаемость, тканевую регенерацию и перистальтику [5, 25]. В настоящее время особое внимание уделяется нейроглии как позвоночных, так и беспозвоночных животных [26]. По фенотипическим, иммуногистохимическим признакам и топографической локализации некоторые авторы выделяют четыре и более вида глиальных клеток [4, 18, 19, 26, 27]. Описаны различные субтипы глиальных клеток в ганглиозных сплетениях, в мышечных слоях, в подслизистой и слизистой оболочках стенки кишки [18, 19]. В ганглиозных сплетениях выделяют 80 % АПК, а 20 % приходится, по-видимому, на немиелинизирующие и миелинообразующие шванновские клетки [18].

По фенотипу у взрослых животных и человека в ЭНС АПК составляют одну из основных популяций периферической глии. Хотя сходство

части кишечных глиальных клеток с астроцитами ЦНС продемонстрировано еще в прошлом столетии [9], исследования этой проблемы с помощью современных ИГХ-методов поставили много вопросов. Среди глии ЭНС, как и в ЦНС, обнаружен широкий спектр клеточного разнообразия. На основе морфологии и экспрессии белков, таких как GFAP, GS, белок S100, протеолипидный белок 1 (PLP1), можно выделять несколько различных типов глии. Известно, что в развитии ЭНС кроме GFAP, высокоспецифичного маркера астроцитов ЦНС, важную роль играют белок S100, PLP1, основной белок миелина и факторы роста. Особое значение придается глиальному нейротрофическому фактору (GDNF), экспрессирующемуся эндоневральными фибробластами и мезенхимными клетками [19, 28, 29]. При его отсутствии нарушается миграция нейроцитов МС из нервных гребней, что приводит к аганглиозу ауэбахова сплетения [30, 31].

В результате настоящего исследования с применением ИГХ-методов мы выделили в ЭНС две глиальные популяции: АПК и НЛЦ. Установлено, что локализация глии астроцитоподобного типа ограничивается исключительно ауэрбаховым ганглиозным сплетением. Предположительно, АПК в основном играют роль в обеспечении жизнедеятельности ганглиозных нейронов (трофики, поддержания необходимого уровня цитодифференцировки нейроцитов, электрогенеза и синаптогенеза, внутренних межнейронных рефлекторных связей), а также участвуют в нейромышечной регуляции тонких механизмов процесса перистальтики кишечника, в то время как нейролеммоцитарный тип глии не только принимает участие в механизмах локомоторных функций, присутствуя во всех тканях стенки кишки, но и обеспечивает нейротканевую гомеостаз и рефлекторные связи ЭНС с ЦНС.

Результаты наших исследований во многом согласуются с литературными данными. Они подтверждают наличие разных популяций глиальных клеток в ЭНС толстого кишечника человека. В отличие от других авторов мы дифференцировали разные типы глии не только по их иммуногистохимической реактивности, но и по морфологии, локализации в ганглии и в межганглиозных тяжах, взаимоотношениям с окружающими структурами. S100 $\beta$ -позитивные глиоциты отличаются по морфологическим и иммуногистохимическим признакам от АПК. Большинство исследователей считают, что все глиальные клетки ЭНС происходят из клеток нервного гребня [30, 31]. Мы предполагаем, что морфофункциональные отличия разных типов глиоцитов обусловлены различием их происхождения. Одни глиоциты образуются

из нервного гребня, а другие – из окружающей его мезодермы (эктомезехимы). Можно предположить, что в эмбриогенезе предшественники нейроглии вместе с нейробластами мигрируют из области нервных гребней в стенку кишечной трубки в составе нервно-клеточных тяжей и обкладочных клеток эктомезенхимы, подобно тому, как это осуществляется при формировании в эмбриогенезе нервных волокон корешковых спинномозговых нервов и становлении сателлит-нейронных взаимоотношений, изученных ранее *in vivo* и *in vitro* [32].

В настоящей работе мы исследовали изменения нейроглиальных клеток при патологии (ХМТЗ). Изучение роли нейроглии в патогенезе различных заболеваний – одна из актуальных проблем современной нейробиологии. За последнее время в литературе накапливаются данные о роли глии в механизмах развития патологических процессов при различных заболеваниях [26]. Имеются доказательства растущей роли дисфункции астроцитов в патофизиологии, неврологии, включая нейродегенеративные заболевания и другие нейропатии [4, 11, 33, 34].

В настоящей работе практически во всех исследованных случаях наблюдались разной степени выраженности картины отека и воспалительных проявлений в соединительной ткани подслизистой оболочки. Как известно, в этом месте, на границе между концентрическим слоем мышечной оболочки и слизистой оболочкой, сосредоточена основная масса крупных венозных и лимфатических собирательных сосудов, проницаемость которых, как показано ранее [17], нарушается в результате денервации. Предполагается, что первыми реагируют на изменение водно-солевого баланса АПК, через которые осуществляется обменно-трофическое обеспечение нейронов МС. Именно АПК могут быть инициаторами тяжелых необратимых процессов гибели нейронов при ХМТЗ.

Таким образом, при ХМТЗ нами обнаружен ряд следующих патологических изменений в стенке кишки: гидропический отек в подслизистой оболочке, экссудативный отек в интерстициальной ткани мышечной оболочки, дегенерация и гибель нейронов в ганглиях, интенсивная вакуолизация АПК и образование «глиальных шаров» в МС, набухание ремаковских тяжей основного нейромышечного сплетения и деструкция его НЛЦ и варикозных аксонов.

### Заключение

В настоящей работе, используя ИГХ-маркеры, в нейропиле ганглиев ЭНС толстой кишки человека описаны две популяции глиальных клеток:

АПК, сходные с глией ЦНС, и нейролеммоцитарная глия, сходная с глией ПНС. Установлено, что астроцитоподобный тип глии встречается исключительно в ауэрбаховом ганглиозном сплетении, а нейролеммоцитарный тип глии присутствует во всех трех нервных сплетениях (МС, ПС, слизистой оболочки) стенки кишки.

Во всех случаях при ХМТЗ, наряду с дегенеративными изменениями нейронов, в ганглиях ауэрбахова сплетения обнаружены патологические изменения со стороны астроцитоподобной глии с признаками глиоза и интенсивной вакуолизации клеток. В аганглиозных узлах на месте погибших нейронов впервые показано образование остаточных шарообразных структур, состоящих из АПК. В мышечной оболочке кишки в большинстве исследованных случаев описаны структурные изменения основного нейромышечного синаптического сплетения: набухание НЛЦ-аксонных (ремаковских) тяжей, фрагментация НЛЦ и распад аксонов.

Так как перечисленные выше патогистологические изменения нервных и глиальных аппаратов ЭНС служат характерными признаками нарушения иннервации тканей стенки кишки, ХМТЗ можно отнести к разряду воспалительных нейродегенеративных заболеваний. К сожалению, остаются невыясненными причинно-следственные связи, вызывающие выраженную гибель нервных клеток, что определяет необходимость дальнейших исследований.

### Список литературы / References

1. Allen N.J., Barres B.A. Neuroscience: Glia – more than just brain glue. *Nature*. 2009;457(7230):675–677. doi: 10.1038/457675a
2. Barres B.A. The mystery and magic of glia: A perspective on their roles in health and disease. *Neuron*. 2008;60(3):430–440. doi: 10.1016/j.neuron.2008.10.013
3. Хачатрян А.А., Ерофеева Л.М., Кутвицкая С.А. Роль нейроглии в функционировании нервной системы. *Успехи соврем. естествозн.* 2014;(6):66–70. Khachatryan A.A., Erofeeva L.M., Kutvitskaya S.A. The role of neuroglia in the functioning of the nervous system. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya = Advances in Current Natural Sciences*. 2014;(6):66–70. [In Russian].
4. Verkhatsky A., Ho M.S., Parpura V. Evolution of neuroglia. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019;1175:15–44. doi: 10.1007/978-981-13-9913-8\_2
5. Ноздрачев А.Д. Физиология вегетативной нервной системы. Ленинград: Медицина, 1983. 296 с. Nozdrachev A.D. Fiziologija vegetativnoj nervnoj sistemy. Leningrad: Meditsina, 1983. 296 p. [In Russian].

6. Furness J.B., Stebbing M.J. The first brain: Species comparisons and evolutionary implications for the enteric and central nervous systems. *Neurogastroenterol. Motil.* 2018;30(2). doi: 10.1111/nmo.13234
7. Sharkey K.A., Mawe G.M. The enteric nervous system. *Physiol. Rev.* 2023;103(2):1487–1564. doi: 10.1152/physrev.00018.2022
8. Gabella G. Ultrastructure of the nerve plexuses of the mammalian intestine: The enteric glial cells. *Neuroscience.* 1981;6(3):425–436. doi: 10.1016/0306-4522(81)90135-4
9. Gabella G. Enteric glia: Extent, cohesion, axonal contacts, membrane separations and mitochondria in Auerbach's ganglia of guinea pigs. *Cell Tissue Res.* 2022;389(3):409–426. doi: 10.1007/s00441-022-03656-3
10. Gershon M.D. The enteric nervous system: a second brain. *Hosp. Pract.* (1995). 1999;34(7):31–32,35–38,41–42 passim. doi: 10.3810/hp.1999.07.153
11. Niesler B., Kuerten S., Demir I.E., Schäfer K.H. Disorders of the enteric nervous system – a holistic view. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021;18(6):393–410. doi: 10.1038/s41575-020-00385-2
12. Pawolski V., Schmidt M.H.H. Neuron–glia interaction in the developing and adult enteric nervous system. *Cells.* 2021;10(1):47. doi: 10.3390/cells10010047
13. Bassotti G., Villanacci V., Crețoiu D., Crețoiu S.M., Becheanu G. Cellular and molecular basis of chronic constipation: taking the functional/idiopathic label out. *World J. Gastroenterol.* 2013;19(26):4099–4105. doi: 10.3748/wjg.v19.i26.4099
14. Ghoshal U.C., Sachdeva S., Pratap N., Verma A., Karyampudi A., Misra A., Abraham P, Bhatia S.J., Bhat N., Chandra A., ... Venkataraman J. Indian consensus on chronic constipation in adults: A joint position statement of the Indian Motility and Functional Diseases Association and the Indian Society of Gastroenterology. *Indian J. Gastroenterol.* 2018;37(6):526–544. doi: 10.1007/s12664-018-0894-1
15. Tian Y., Wang L., Ye J.W., Zhang Y., Zheng H.C., Shen H.D., Li F., Liu B.H., Tong W.D. Defecation function and quality of life in patients with slow-transit constipation after colectomy. *World J. Clin. Cases.* 2020;8(10):1897–1907. doi: 10.12998/wjcc.v8.i10.1897
16. Wedel T., Roblick U., Gleiss J., Schiedeck T., Bruch H.P., Kuhnel W., Krammer H.J. Organization of the enteric nervous system in the human colon demonstrated by wholemount immunohistochemistry with special reference to the submucous plexus. *Ann. Anat.* 1999;181(4):327–337. doi: 10.1016/S0940-9602(99)80122-8
17. Чумасов Е.И., Майстренко Н.А., Ромашенко П.Н., Самедов В.Б., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Иммуногистохимическое исследование симпатической иннервации кишки человека. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.* 2022;(11):191–197. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-191-197
18. Chumasov E.I., Majstrenko N.A., Romashchenko P.N., Samedov V.B., Petrova E.S., Korzhevskij D.E. Immunohistochemical study of the sympathetic innervation of the colon in chronic slow-transit constipation. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2022;(11):191–197. [In Russian]. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-191-197
19. Boesmans W., Lasrado R., Vanden Berghe P., Pachnis V. Heterogeneity and phenotypic plasticity of glial cells in the mammalian enteric nervous system. *Glia.* 2015;63(2):229–241. doi: 10.1002/glia.22746
20. Grundmann D., Loris E., Maas-Omlor S., Huang W., Scheller A., Kirchoff F., Schäfer K.H. Enteric glia: S100, GFAP, and beyond. *Anat. Rec. (Hoboken).* 2019;302(8):1333–1344. doi: 10.1002/ar.24128
21. Ивашкин В.Т., Шельгин Ю.А., Маев И.В., Шептулин А.А., Алешин Д.В., Ачкасов С.И., Баранская Е.К., Куликова Н.Д., Лапина Т.Л., Москалев А.И., ... Шифрин О.С. Диагностика и лечение запора у взрослых. (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России). *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2020;30(6):69–85. doi: 10.22416/1382-4376-2020-30-6-69-85.
22. Ivashkin V.T., Shelygin Yu.A., Maev I.V., Sheptulin A.A., Aleshin D.V., Achkasov S.I., Baranskaya E.K., Kulikova N.D., Lapina T.L., Moskalev A.I., ... Shifrin O.S. Clinical recommendations of the Russian gastroenterological association and Association of coloproctologists of Russia on diagnosis and treatment of constipation in adults. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2020; 30(6): 69–85. [In Russian]. doi: 10.22416/1382-4376-2020-30-6-69-85
23. Самедов В.Б., Ромашенко П.Н., Ревин Г.О. Обоснование диагностического алгоритма и лечебной тактики у больных хроническим медленно-транзитным запором. *Вестн. Рос. воен.-мед. акад.* 2021;23(3):75–82. doi: 10.17816/brmma74259
24. Samedov V.B., Romashchenko P.N., Revin G.O. Justification of the diagnostic algorithm and treatment strategies in patients with severe chronic slow-transit constipation. *Vestnik Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2021;23(3):75–82. [In Russian]. doi: 10.17816/brmma74259
25. Barberio B., Judge C., Savarino E.V., Ford A.C. Global prevalence of functional constipation according to the Rome criteria: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2021;6(8):638–648. doi: 10.1016/S2468-1253(21)00111-4
26. Bharucha, A.E., Wald A. Chronic constipation. *Mayo Clinic. Proceedings.* 2019;94(11):2340–2357. doi: 10.1016/j.mayocp.2019.01.031

24. Лазебник Л.Б., Туркина С.В., Голованова Е.В., Ардатская М.Д., Остроумова О.Д., Комиссаренко И.А., Корочанская Н.В., Козлова И.В., Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А., ... Шемеровский К.А. Запоры у взрослых. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.* 2020;(3):10–33. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-10-33

Lazebnik L.B., Turkina S.V., Golovanova E.V., Ardatskaya M.D., Ostroumova O.D., Komissarenko I.A., Korochanskaya N.V., Kozlova I.V., Uspenskij Yu.P., Fominyh Yu.A., ... Shemerovskij K.A. Constipation in adults. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология = Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2020;(3):10–33. [In Russian]. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-10-33

25. Valès S., Touvron M., van Landeghem L. Enteric glia: Diversity or plasticity? *Brain Res.* 2018;1693 (Pt B):140–145. doi: 10.1016/j.brainres.2018.02.001

26. Rosenberg H.J., Rao M. Enteric glia in homeostasis and disease: From fundamental biology to human pathology. *iScience.* 2021;24(8):102863. doi: 10.1016/j.isci.2021.102863

27. Gulbransen B.D., Sharkey K.A. Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012;9(11):625–632. doi: 10.1038/nrgastro.2012.138

28. Sasselli V., Pachnis V., Burns A.J. The enteric nervous system. *Dev. Biol.* 2012;366(1):64–73. doi: 10.1016/j.ydbio.2012.01.012

29. Lake J.I., Heuckeroth R.O. Enteric nervous system development: Migration, differentiation, and disease. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2013;305(1):G1–G24. doi: 10.1152/ajpgi.00452.2012

30. Schuchardt A., d'Agati V., Larsson-Blomberg L., Costantini F., Pachnis V. Defects in the kidney and enteric nervous system of mice lacking the tyrosine kinase receptor Ret. *Nature.* 1994;367(6461):380–383. doi: 10.1038/367380a0

31. Enomoto H., Araki T., Jackman A., Heuckeroth R.O., Snider W.D., Johnson E.M. Jr., Milbrandt J. GFR alpha1-deficient mice have deficits in the enteric nervous system and kidneys. *Neuron.* 1998;21(2):317–324. doi: 10.1016/s0896-6273(00)80541-3

32. Чумасов Е.И. Морфогенез тканей центральной и периферической нервной системы в условиях культивирования и трансплантации: автореф. дис... докт. мед. наук. Ленинград, 1981.

Chumasov E.I. Morphogenesis of tissues of the central and peripheral nervous system under conditions cultivation and transplants: abstract of thesis... doct. med. sciences. Leningrad, 1981. [In Russian].

33. Ricci G., Volpi L., Pasquali L., Petrozzi L., Siciliano G. Astrocyte-neuron interactions in neurological disorders. *J. Biol. Phys.* 2009;35(4):317–336. doi: 10.1007/s10867-009-9157-9

34. Sofroniew M.V., Vinters H.V. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol.* 2010;119(1):7–35. doi: 10.1007/s00401-009-0619-8

#### Информация об авторах:

**Чумасов Евгений Иванович**, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0003-4859-6766, e-mail: ua1ct@mail.ru

**Майстренко Николай Анатольевич**, д.м.н., проф., академик РАН, ORCID: 0000-0002-1405-7660, e-mail: nik.m.47@mail.ru

**Ромашенко Павел Николаевич**, д.м.н., проф., член-корр. РАН, ORCID: 0000-0002-1405-7660, e-mail: romashchenko@rambler.ru

**Самедов Вадим Бейбалаевич**, ORCID: 0000-0002-4002-6913, e-mail: samedov07@rambler.ru

**Петрова Елена Сергеевна**, к.б.н., ORCID: 0000-0003-0972-8658, e-mail: iemmorphol@yandex.ru

**Коржевский Дмитрий Эдуардович**, д.м.н., проф. РАН, ORCID: 0000-0002-2456-8165, e-mail: iemmorphol@yandex.ru

#### Information about the authors:

**Evgeny I. Chumasov**, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0003-4859-6766, e-mail: ua1ct@mail.ru

**Nikolay A. Maistrenko**, doctor of medical sciences, professor, academician of the RAS, ORCID: 0000-0002-1405-7660, e-mail: nik.m.47@mail.ru

**Pavel N. Romashchenko**, doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAS, ORCID: 0000-0002-1405-7660, e-mail: romashchenko@rambler.ru

**Vadim B. Samedov**, ORCID: 0000-0002-4002-6913, e-mail: samedov07@rambler.ru

**Elena S. Petrova**, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-0972-8658, e-mail: iemmorphol@yandex.ru

**Dmitry E. Korzhevskii**, doctor of medical sciences, professor of the RAS, ORCID: 0000-0002-2456-8165, e-mail: iemmorphol@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.06.2023

После доработки 28.08.2023

После повторной доработки 14.10.2023

Принята к публикации 16.10.2023

Received 07.06.2023

Revision received 28.08.2023

Second revision received 14.10.2023

Accepted 16.10.2023