

Иммуногистохимические маркеры для исследования органов пищеварительной системы

Е.И. Чумасов¹, Е.С. Петрова¹, В.Б. Самедов², Е.А. Колос¹, Д.Э. Коржевский¹

¹ ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. *Введение.* При проведении морфологического исследования органов пищеварительной системы важным этапом является выбор адекватных и информативных подходов, один из которых – иммуногистохимическое исследование. Цель настоящей работы – выделить наиболее эффективные и надежные иммуногистохимические маркеры в дополнение к общеизвестным маркерам, используемым в диагностике.

Материалы и методы. Объектами исследования служили различные отделы кишечника и поджелудочной железы крыс Вистар (n=20) и фрагменты кишки человека, полученные в результате плановой операции – резекции кишечника (n=4). В статье представлены результаты иммуногистохимических реакций на нейрональные маркеры, глиальные маркеры и маркеры клеток, участвующих в развитии воспалительных процессов.

Результаты. Изучены основные иммуногистохимические маркеры, позволяющие исследовать иннервацию органов пищеварительной системы. Это нейрональные (белок PGP 9.5, тирозингидроксилаза, синаптофизин, серотонин) и глиальные (глиальный фибриллярный кислый белок и белок S100) маркеры, которые позволяют идентифицировать все нервные структуры в органах пищеварительной системы крыс: нейроны и их отростки, нервные стволы и пучки, нервные сплетения, терминальные сети, а также маркеры макрофагов (CD68, Iba1) и тучных клеток (триптаза), которые применимы для изучения воспалительного процесса в органах желудочно-кишечного тракта при патологии. Отмечен ряд особенностей используемых для выявления определенных антигенов первичных антител и фиксирующих жидкостей.

Заключение. Описанная методология перспективна для оценки состояния тканей кишки и поджелудочной железы и может быть использована при диагностике заболеваний, связанных с воспалением и нейродегенерацией.

Ключевые слова: двенадцатиперстная кишка, толстая кишка, поджелудочная железа, крыса, человек, иннервация, воспаление, иммуногистохимия

Для корреспонденции: Елена Сергеевна Петрова. E-mail: iemmorphol@yandex.ru

Для цитирования: Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Самедов В.Б., Колос Е.А., Коржевский Д.Э. Иммуногистохимические маркеры для исследования органов пищеварительной системы. Клини. эксп. морфология. 2022;11(4):70–84. DOI: 10.31088/СЕМ2022.11.4.70-84.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Института экспериментальной медицины (№ FGWG-2022-0002).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 11.04.2022. Получена после рецензирования 22.04.2022. Принята в печать 25.04.2022.

Immunohistochemical markers to study the digestive organs

E.I. Chumasov¹, E.S. Petrova¹, V.B. Samedov², E.A. Kolos¹, D.E. Korzhevskii¹

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

² S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

Abstract. *Introduction.* To select an appropriate and informative histological method is a very important step in morphological analysis of the digestive organs, one of them being immunohistochemistry. The aim of this paper was to highlight the most effective immunohistochemical markers in addition to the well-known markers used in pathological diagnosis.

Materials and methods. We studied sections of the intestine and pancreas of Wistar rats (n=20) and fragments of the human colon obtained during resection surgeries (n=4). We described and analyzed the results of immunohistochemical studies with neuronal and glial marker antibodies and inflammatory cells antibodies.

Results. Neural (PGP 9.5 protein, tyrosine hydroxylase, synaptophysin, and serotonin) and glial markers (glial fibrillar acidic protein and S100 protein) enable for identifying all of the nervous structures in the murine digestive system such as neurons, nerve trunks and bundles, nerve plexuses, and terminals. Macrophage markers (CD68, Iba1) and mast cell marker (mast cell tryptase) can be applied to study the inflammatory process in the intestinal tissue. We described the key features of primary antibodies and fixative agents used in histopathology.

Conclusion. We have shown that the described method is a promising assessment technique for histological studies of the intestine and pancreas pathologies. It can be used in diagnosing conditions associated with inflammation and neurodegeneration.

Keywords: duodenum, colon, pancreas, rat, human, innervation, inflammation, immunohistochemistry

Corresponding author: Elena S. Petrova. E-mail: iemmorpol@yandex.ru

For citation: Chumasov E.I., Petrova E.S., Samedov V.B., Kolos E.A., Korzhevskii D.E. Immunohistochemical markers to study the digestive organs. Clin. exp. morphology. 2022;11(4):70–84 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.70-84.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to Institute of Experimental Medicine (No. FGWG-2022-0002).

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

Received 11.04.2022. **Received in revised form** 22.04.2022. **Accepted** 25.04.2022.

Введение

Актуальность изучения клинико-морфологических особенностей поражений органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) обусловлена большой распространенностью этих патологий, а также недостатком знаний о патогенезе ряда заболеваний [1, 2]. Исследования структурных элементов стенок кишечника и поджелудочной железы проводятся в течение многих десятилетий, морфологическая диагностика осуществляется, как правило, гистологическими и гистохимическими методами. В настоящее время для изучения морфофункциональных особенностей клеток и тканей органов пищеварительной системы, а также их изменений при патологии используются методы иммуногистохимического выявления собственных им белков [3–5]. Развитие большинства патологий в этих органах (исключая онкологию) связаны с двумя основными проблемами – нарушением иннервации и воспалительными процессами. Ранее показано, что иммуногистохимические (ИГХ) реакции на ряд нейрональных белков позволяют изучать иннервацию внутренних органов в норме и при патологии [6]. Известно, что нормальное функционирование кишечника регулируется нервной системой [7]. Вторым важным патогенетическим фактором заболеваний кишечника является воспалительный процесс. Вопросы патогенеза некоторых воспалительных заболеваний кишечника, в частности болезни Крона, синдрома раздраженного кишечника, язвенного колита, хронического медленнотранзитного запора (ХМТЗ), до сих пор остаются малоизученными. Для успешного лечения, последующей восстановительной терапии и более точной оценки структурных изменений, наблюдаемых в стенке кишки, необходимы морфологические сведения, полученные с использованием специальных иммуногистохимических методов, которые позволяют оценить состояние нервных

структур и клеток, участвующих в воспалительных процессах, а также их взаимоотношения.

Цель настоящего исследования – определить наиболее эффективные и надежные иммуногистохимические маркеры в дополнение к общеизвестным маркерам, используемым в диагностике органов ЖКТ.

Материалы и методы

В работе использованы крысы Вистар массой 200–250 граммов (n=20) и резекционный материал, полученный на кафедре факультетской хирургии им. С.П. Федорова Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (четыре случая, женщины в возрасте 37–40 лет). При исследовании, проводимом на крысах, соблюдали международные правила Европейской декларации о гуманном обращении с животными. При работе с материалом, полученном в результате оперативного вмешательства по поводу хронического медленнотранзитного запора, соблюдали правила Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 2000 года. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Института экспериментальной медицины (протокол № 3/19 от 25 апреля 2019 года). Крыс выводили из эксперимента передозировкой паров этилового эфира, выделяли фрагменты поджелудочной железы (ПЖ), двенадцатиперстной и ободочной кишки размером приблизительно 1,5 см и фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида и в 10% растворе формалина. Фрагменты ободочной и сигмовидной кишки человека также фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида и в 10% растворе формалина. После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации и ксилоле гистологический материал заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм изготавливали на ротационном микротоме Rotary 3003 PFM (PFM, Германия). Иммуногистохимические реакции проводили на парафиновых срезах ПЖ, тонкой и толстой кишки крысы

и толстой кишки человека. Для визуализации определенных структурных элементов стенки кишечника применяли антитела, характеристика которых представлена в таблице.

В качестве вторичных реагентов использовали реактивы из наборов Super Sensitive Polymer-HRP Detection System (Bio Genex, США) и EnVision+ System– HRP Labeled Polymer Anti-Mouse (K4001) (Dako, Дания). Для визуализации продукта иммуногистохимической реакции применяли 3'3'-диаминобензидин (набор реагентов DAB+, Dako, Дания). Для

иммуногистохимических реакций проводили отрицательный контроль с нанесением на срезы вместо первичных антител их разбавителя (Dako, Дания). После постановки ИГХ реакций часть срезов подкрашивали 0,2% водным раствором астрового синего (Merck, Германия), 0,1% водным раствором толуидинового синего (Sigma, США) или гематоксилином и эозинном. Анализ гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа Leica DM 750 (Leica, Германия) и цифровой камеры Leica ICC 50 (Leica, Германия).

Таблица | Table

Характеристика первичных антител, использованных для иммуногистохимического окрашивания структурных элементов ПЖ и кишки крысы и человека | Features of primary antibodies used for immunohistochemical detection of structural elements of murine and human pancreas and intestine

Исследуемый антиген Studied antigen	Характеристика антител Antibody feature	Фирма Company	Выявляемые структуры Detectable structures	Взаимодействие антител (виды) Antibody interactions (species)
Белок PGP 9.5 PGP 9.5 protein	Кроличьи поликлональные антитела Rabbit polyclonal antibodies	Spring Bioscience, США Spring Bioscience, USA	Все нервные структуры (нервные стволы и пучки, нервные сплетения и клетки без учета их медиаторной специфики) All nervous structures (nerve trunks and bundles, nerve plexuses and cells of various neurotransmitters)	Крыса, человек Rat, human
Тирозингидроксилаза Tyrosine hydroxylase	Кроличьи поликлональные антитела Rabbit polyclonal antibodies	Abcam, Великобритания Abcam, UK	Катехоламинергические структуры симпатической нервной системы Catecholaminergic structures of the sympathetic nervous system	Крыса, человек Rat, human
Синаптофизин Synaptophysin	Мышиные моноклональные антитела (клон SY 38) Mouse monoclonal antibodies (clone SY 38)	Dako, Дания Dako, Denmark	Нервные терминалы Nerve terminals	Крыса, человек Rat, human
Синаптофизин Synaptophysin	Кроличьи поликлональные антитела Rabbit polyclonal antibodies	MONOSAN, Нидерланды MONOSAN, Netherlands	Нервные терминалы Nerve terminals	Крыса, человек Rat, human
Синаптофизин Synaptophysin	Кроличьи моноклональные антитела (клон SP11) Rabbit monoclonal antibodies (clone SP11)	Spring Bioscience, США Spring Bioscience, USA	Нервные терминалы Nerve terminals	Крыса, человек Rat, human
Серотонин (5-HT) Serotonin (5-HT)	Кроличьи поликлональные антитела Rabbit polyclonal antibodies	Leica-Novocastra, Великобритания Leica-Novocastra, UK	Энтерохромаффинные клетки Enterochromaffin cells	Крыса, человек Rat, human
Глиальный фибриллярный кислый белок Glial fibrillar acidic protein	Кроличьи поликлональные антитела (RTU) Rabbit polyclonal antibodies (RTU)	Dako, Дания – Agilent, США Dako, Denmark – Agilent, USA	Глиальные клетки Glial cells	Крыса, человек Rat, human

Окончание таблицы | End table

Изучаемый антиген Studied antigen	Характеристика антител Antibody feature	Фирма Company	Выявляемые структуры Detectable structures	Взаимодействие антител (виды) Antibody interactions (species)
Глиальный фибриллярный кислый белок Glial fibrillar acidic protein	Мышиные моноклональные антитела (клон SPM 507) Mouse monoclonal antibodies (clone SPM 507)	Spring Bioscience, США Spring Bioscience, USA	Глиальные клетки Glial cells	Крыса, человек Rat, human
Белок S100 Protein S100	Кроличьи поликлональные антитела Rabbit polyclonal antibodies	Dako, Дания Dako, Denmark	Глиальные клетки Glial cells	Крыса, человек Rat, human
Альфа-актин Alpha actin	Мышиные моноклональные антитела (клон 1A4) Mouse monoclonal antibodies (clone 1A4)	Dako, Дания Dako, Denmark	Гладкомышечные клетки Smooth muscle cells	Крыса, человек Rat, human
Белок Iba1 Protein Iba1	Поликлональные козы антитела Polyclonal goat antibodies	Abcam, Великобритания Abcam, UK	Макрофаги Macrophages	Крыса, человек Rat, human
CD68	Моноклональные мышиные антитела (клон KP1) Mouse monoclonal antibodies (clone KP1)	Dako, Дания Dako, Denmark	Макрофаги Macrophages	Человек Human
Триптаза тучных клеток Mast cell tryptase	Мышиные моноклональные антитела (клон AA1) Mouse monoclonal antibodies (clone AA1)	BioGenex, США BioGenex, USA	Тучные клетки Mast cells	Человек Human

Результаты

Нервные и глиальные структуры в органах пищеварительной системы крысы в норме

Для отработки протоколов проведения иммуногистохимических реакций, позволяющих выявить нервные структуры органов пищеварительной системы, были изучены фрагменты двенадцатиперстной и ободочной кишки и ПЖ интактных лабораторных крыс Вистар. На парафиновых поперечных срезах кишки и ПЖ проводили ИГХ реакции на белок PGP 9.5, тирозингидроксилазу (TH) и синаптофизин (Syn).

Показано, что специальное сочетание иммуногистохимических методов позволяет оценить симпатическую и парасимпатическую иннервацию поджелудочной железы. С использованием ИГХ реакций на белок PGP 9.5 и тирозингидроксилазу были проанализированы последовательные срезы через ПЖ половозрелой крысы (рис. 1). Это позволило идентифицировать TH-негативные холинергические и TH-позитивные катехоламинергические нервные структуры в дольках и соединительной ткани между дольками ПЖ. PGP 9.5-положительными оказываются также клетки островков Лангерганса.

Применение иммуногистохимической реакции на белок PGP 9.5 позволило выявить два ганглиозных сплетения в стенке двенадцатиперстной кишки крысы – межмышечное и подслизистое (рис. 2 А).

Кроме того, в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки определяется третья – ворсинчатое нервное сплетение (рис. 2 В). Межмышечное нервное сплетение находится между циркулярным и продольным гладкомышечными слоями стенки кишки, в нем выявляются крупные, средние и мелкие ганглии, группы и цепочки нейронов встречаются внутри, по ходу нервных стволиков. Количество нейронов в ганглиях различно: от нескольких десятков до сотни. Пучки нервных волокон нейронов этого сплетения участвуют в формировании связей между ганглиями и иннервируют стенку кишки. Подслизистое нервное сплетение представлено узкопетливой сетью нервных пучков и микроганглиев, состоящих из мелких групп нервных клеток, имеющих размеры 25–35 мкм, округлую или грушевидную форму.

С помощью ИГХ реакции на синаптофизин показано, что в межмышечном и подслизистом нервных сплетениях выявляется плотная сеть перичеселлюлярных синаптических аппаратов, окружающих перикарионы нейронов и их дендриты. Многочисленные

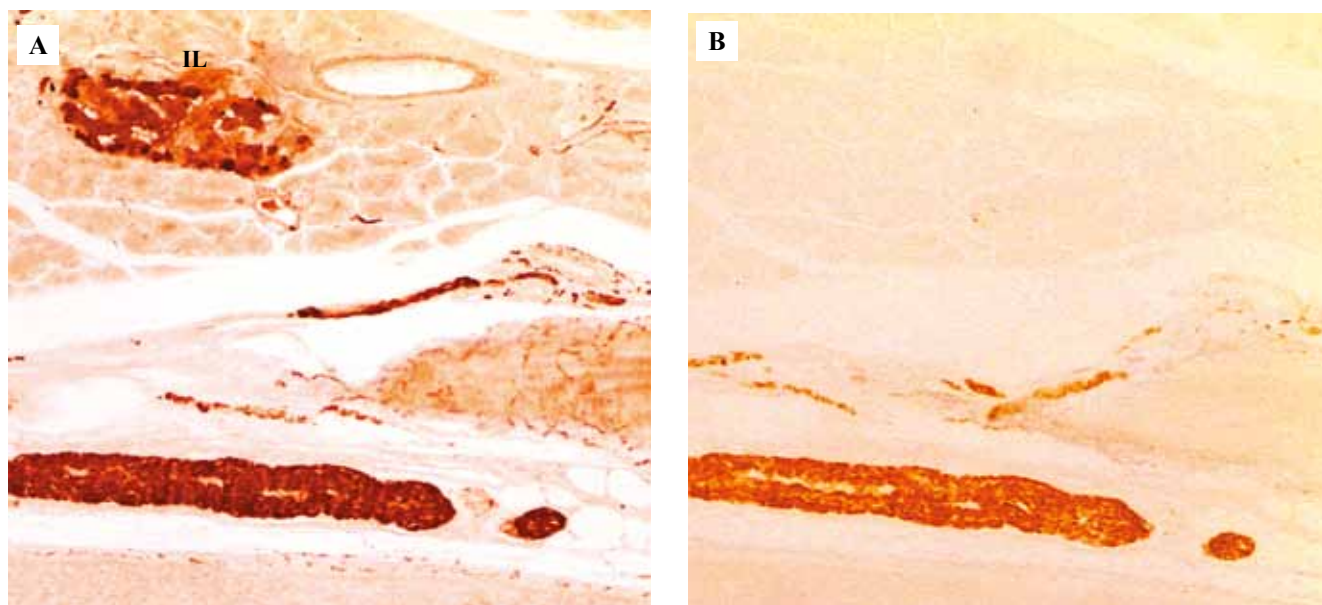


Рис. 1. Иннервация поджелудочной железы крысы.

А, В – последовательные срезы. IL – островок Лангерганса. Иммуногистохимические реакции на белок PGP 9.5 (А) и на тирозингидроксилазу (В), $\times 100$

Fig. 1. Innervation of the rat pancreas.

А, В – successive sections. IL – islet of Langerhans. Immunohistochemical reactions to PGP 9.5 protein (А) and TH (В), $\times 100$

синаптофизинпозитивные терминалы наблюдаются в обоих гладкомышечных слоях мышечной оболочки стенки кишки, в мышечной пластинке слизистой оболочки, вокруг артериальных регионарных сосудов (рис. 2 С–Е).

С помощью применения нейронального маркера – тирозингидроксилазы в стенке двенадцатиперстной кишки крысы выявляются симпатические катехоламинергические структуры. Основная масса TH^+ симпатических нервных волокон и их терминалей локализована внутри ганглиозных сплетений. Тонкие варикозные терминалы образуют вокруг нейронов ганглиев сеть из варикозных аксонов, так называемых *epassant-синапсов* (рис. 2 F). Они же найдены вокруг мелких артерий и артериол в межмышечном и подслизистом нервных сплетениях. Следует подчеркнуть, что в ворсинках слизистой оболочки TH^+ симпатические структуры практически отсутствуют. В мышечной оболочке симпатические нервные структуры определяются редко, в значительно меньшем количестве, чем PGP 9.5^+ холинергические.

Глиальные клетки энтеральной нервной системы являются наименее изученными структурными элементами. В нашем исследовании показано с использованием специальных маркеров (белок S100 и GFAP), что в стенке кишки крысы большая часть глиальных клеток встречается в межмышечном и подслизистом ганглиозных сплетениях (рис. 3). Глиальные клетки идентифицируются по характерной темно-коричневой окраске ядра, цитоплазмы и отростков. Они в большом количестве наблюдаются вдоль хода аксонов в ганглионарных сплетениях, вокруг перикарионов и дендритных от-

ростков нейронов внутри ганглиев, а также в нервных сплетениях мышечных слоев.

Изменение нервных и глиальных структур в стенке кишки человека при патологии

Как и у лабораторных животных, при иммуногистохимических реакциях на нейрональные маркеры – белок PGP 9.5, синаптофизин, тирозингидроксилазу в разных отделах толстой кишки пациентов с хроническим медленнотранзитным запором нами были выявлены два основных ганглиозных сплетения – миентеральное, или ауэрбахово, и подслизистое, или мейсснерово (рис. 4), а также нервное сплетение слизистой оболочки.

Известно, что безмиелиновые волокна миентерального сплетения в основном являются производными отростков разных типов ганглиозных клеток самого сплетения. Нервные волокна объединяются в стволы и пучки, которые и составляют собственно трехмерную широкопетлистую сеть, окружающую в виде футляра кишечную трубку. Основная роль ганглиозных клеток этого сплетения заключается в иннервации мышечной ткани, обеспечении регуляции моторики и перистальтики кишки. PGP 9.5^+ ганглиозное сплетение и его фрагменты располагаются между продольным и циркулярным слоями мышечной оболочки толстой кишки и прослеживаются по всей ее длине в проксимо-дистальном направлении. Средняя толщина тяжелей, составляющих сплетение на поперечных срезах, варьирует от 50 до 150 мкм. Нервные клетки в нем не только располагаются в виде ганглиев, но и встречаются внутри межганглионарных стволиков и пучков в виде мелких групп, рядов клеток, цепочек и отдельных клеток.

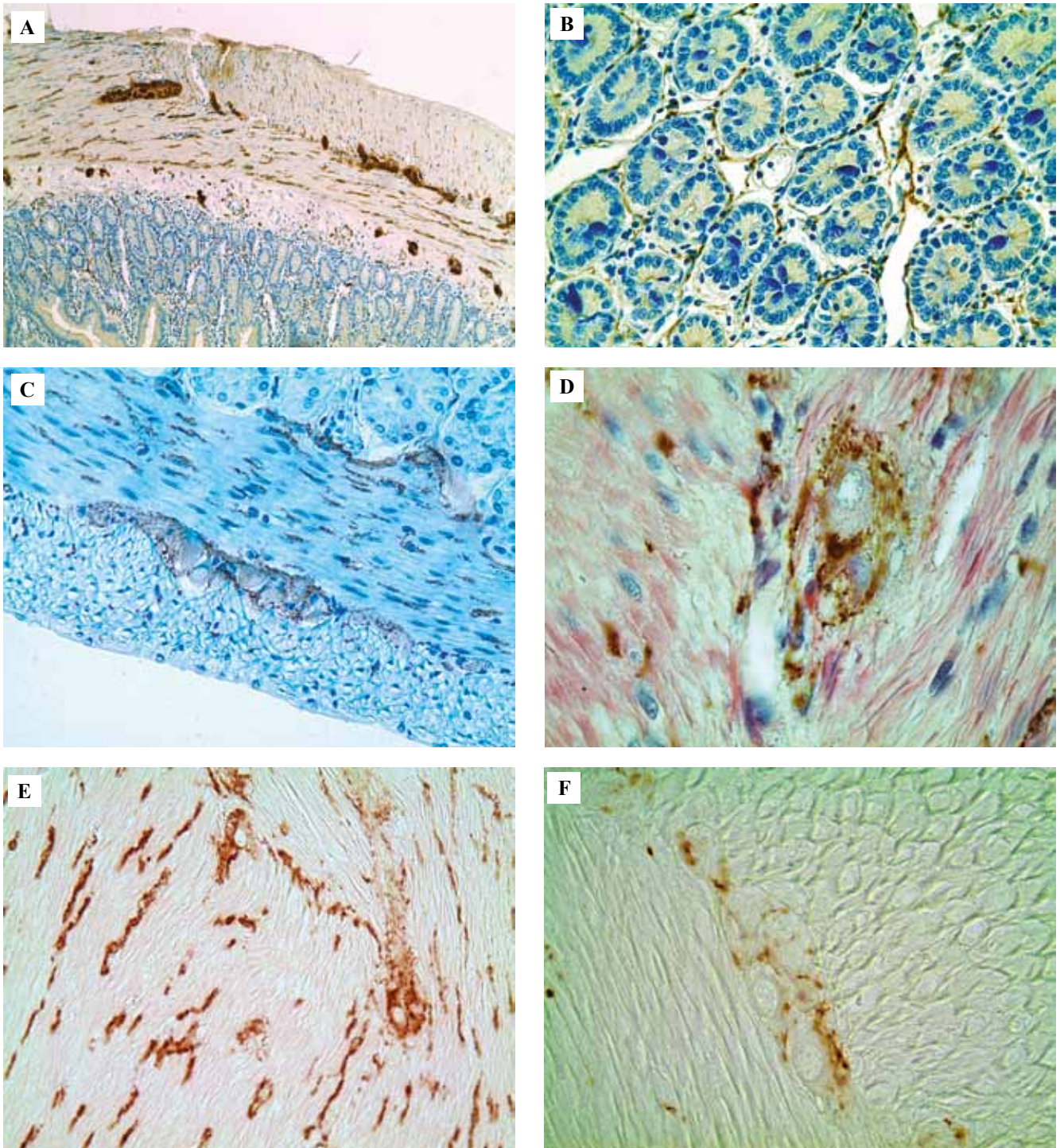


Рис. 2. Нервные структуры в стенке двенадцатиперстной кишки крысы.

А – поперечный срез двенадцатиперстной кишки крысы; В – ворсинчатое нервное сплетение; С, D – густая сеть синатофизиниммунореактивных перичеселлюлярных аппаратов вокруг нейронов ганглиев межмышечного нервного сплетения; E – терминалы в мышечной ткани стенки кишки и вокруг нейронов; F – катехоламинергические синаптические аппараты вокруг нейронов ганглиозного сплетения. Иммуногистохимические реакции на белок PGP 9.5 (A, B), на синатофизин (C–E), на тирозингидроксилазу (F); подкрашивание толуидиновым синим (A–C) и гематоксилином и эозином (D), $\times 100$ (A), $\times 400$ (B–F)

Fig. 2. Nerve structures in the murine duodenal wall.

A – cross section of the duodenum; B – the nerve plexus in the villus; C, D – a rich network of synaptophysin-immunoreactive pericellular apparatuses around the neurons of the intermuscular plexus; E – catecholaminergic synaptic apparatuses around ganglionic plexus neurons. Immunohistochemical reactions to PGP 9.5 protein (A, B), synaptophysin (C–E), tyrosine hydroxylase (F); with toluidine blue staining (A–C), and hematoxylin and eosin staining (D), $\times 100$ (A), $\times 400$ (B–F)

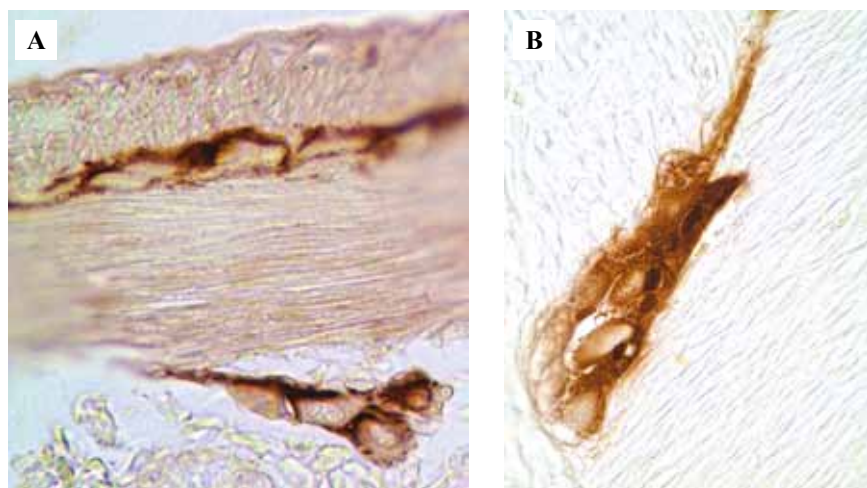


Рис. 3. Глиальные клетки в ганглиях межмышечного и подслизистого сплетений крысы. Иммуногистохимические реакции на глиальный фибриллярный кислый белок (А) и белок S100 (В), $\times 1000$

Fig. 3. Glial cells in the ganglia of the intermuscular and submucosal plexuses in rat. Immunohistochemical reactions for GFAP (A) and S100 protein (B), $\times 1000$

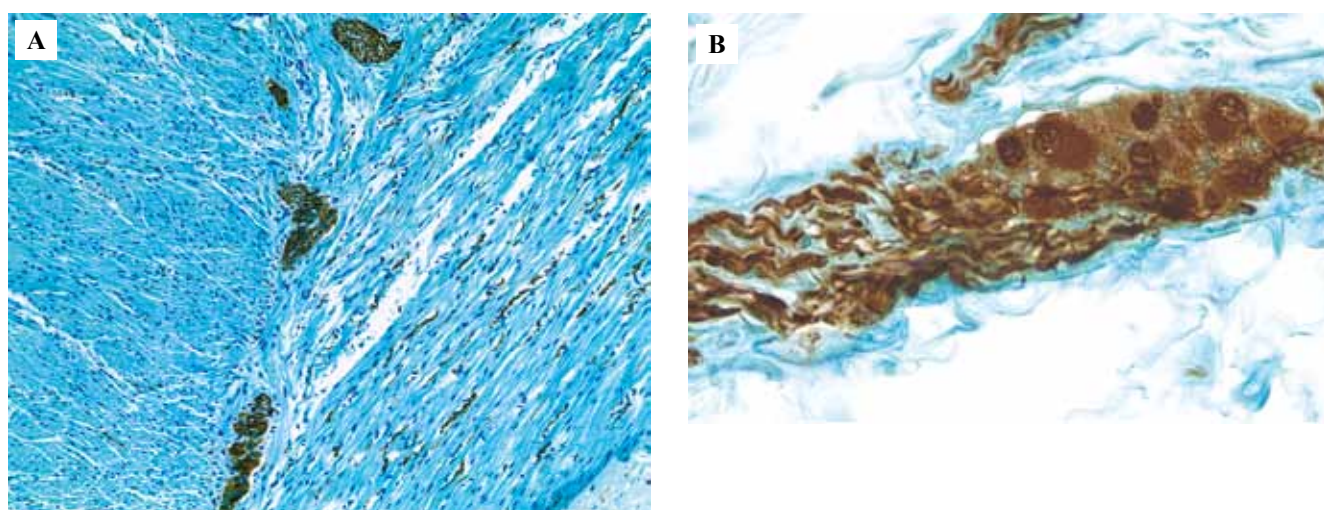


Рис. 4. Общий вид стенки ободочной кишки человека (А) и ганглий межмышечного нервного сплетения (В) ободочной кишки человека. Иммуногистохимическая реакция на PGP 9.5, подкрашивание астровым синим. $\times 100$ (А), $\times 400$ (В)

Fig. 4. General view of the human colon wall (A) and intermuscular nerve plexus ganglia (B) of the human colon. Immunohistochemical reaction to PGP 9.5 with aster blue staining. $\times 100$ (A), $\times 400$ (B)

В некоторых участках ганглиев энтеральной нервной системы наряду с погибшими и патологически измененными клетками наблюдаются небольшие скопления, группы и/или одиночные клетки с характерными морфологическими признаками неизмененных нейронов. Они имеют крупные размеры тела (40–60 мкм в диаметре), неправильную форму, большой объем цитоплазмы, крупное пузырьковидное светлое ядро с одним хорошо различимым ядрышком (рис. 4).

При использовании иммуногистохимической реакции на Syn в ганглиях удастся выявить сеть нервных терминалей в области крипт; можно видеть, что часть варикозных аксонов находится в состоянии зернистого распада (рис. 5 А). Иногда в слизистой оболочке среди энтероцитов выявляются отдельные Syn-содержащие энтерохромаффинные клетки.

Применив ИГХ реакцию на тирозингидроксилазу, нам удалось выявить симпатические нервные

структуры в ганглиозных сплетениях кишки человека (рис. 5 В).

С помощью сравнительного исследования симпатической и парасимпатической иннервации крипт установлено, что у пациентов с ХМТЗ симпатическая иннервация в слизистой оболочке практически отсутствует. На рисунках 6 А и 6 В приведены микрофотографии срезов ободочной кишки пациентки с ХМТЗ в области крипт, на которых видно, что TH⁺ волокна здесь отсутствуют, в отличие от PGP 9.5⁺ (холинергических) волокон.

Количество и локализация глиальных клеток в ганглиях сильно варьируют. В некоторых ганглиях они расположены разреженно, иногда вблизи нервных клеток. В ганглиях с патологически измененными нейронами наблюдаются выраженный глиоз и образование очаговых скоплений глиоцитов (рис. 7). Порой они вплотную окружают нервные клетки. Обнаружены два типа глии: GFAP⁺ и S100⁺.

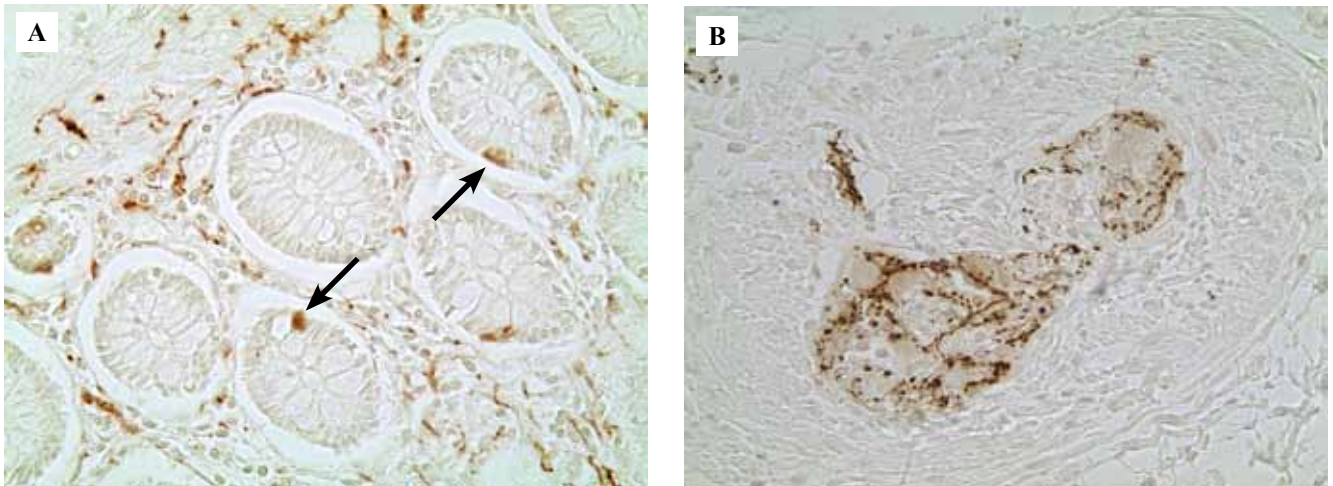


Рис. 5. Нервная сеть варикозных аксонов в слизистой сигмовидной кишке человека (А) и синаптические аппараты вокруг тел измененных нейронов в ганглиях ободочной кишки пациентов с хроническим медленнотранзитным запором (В). Стрелки – энтерохромаффинные клетки. Иммуногистохимическая реакция на синаптофизин (А) и тирозингидроксилазу (В), $\times 400$

Fig. 5. Neural network of varicose axons in the mucosa of the human sigmoid colon (A) and synaptic apparatuses around the neuronal cell bodies in the colon ganglia in patients with chronic slow-transit constipation (B). Arrows – enterochromaffin cells. Immunohistochemical reaction to synaptophysin (A) and tyrosine hydroxylase (B), $\times 400$

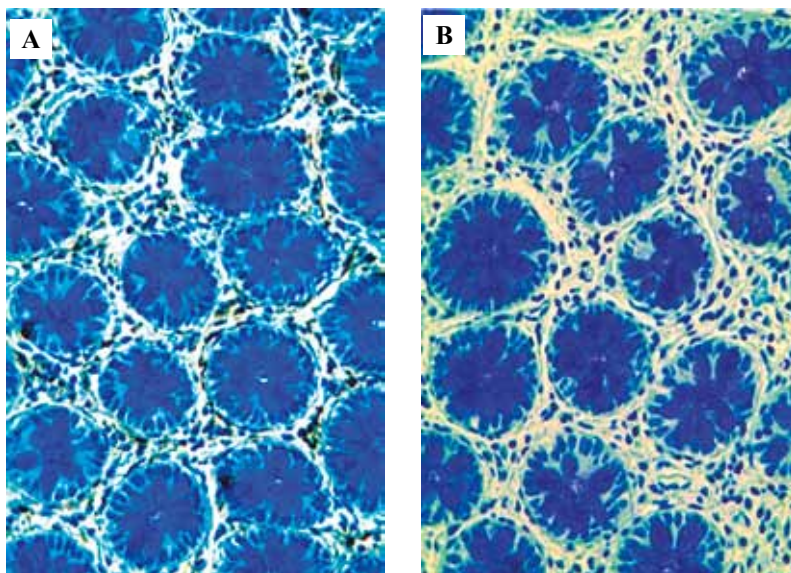


Рис. 6. Сравнительное исследование PGP 9.5⁺ и TH⁺ структур в кишке человека при патологии. Иммуногистохимические реакции на белок PGP 9.5 (А) и на тирозингидроксилазу (В), подкрашивание толуидиновым синим, $\times 400$

Fig. 6. Comparative study of PGP 9.5⁺ and TH⁺ structures in the pathological human colon tissues. Immunohistochemical reaction to protein PGP 9.5 (A) and TH (B), toluidine blue staining, $\times 400$

Нередко можно встретить ганглии с дегенерировавшими нейронами (рис. 7 А) и выраженный глиоз (рис. 7 В).

В гладкомышечных слоях стенки ЖКТ крыс и человека также отмечается наличие большого числа глиальных клеток. Топографическое сопоставление ИГХ реакций на PGP 9.5 и на глиальные маркеры показывает, что сети из PGP 9.5⁺ иммунореактивных аксонов и из S100⁺ и GFAP⁺ глиальных клеток образуют единое

терминальное сплетение, состоящее из комплементарных нейроглиальных элементов, так называемых ремиковских волокон.

В собственной пластинке слизистой оболочки кишки человека среди крипт, на месте густой сети PGP 9.5⁺ иммунореактивных варикозных аксонов выявляется комплементарная сеть S100⁺ глиоцитов с отростками. S100⁺ глиоциты встречаются вокруг перикарионов нейронов межмышечного и подслизистого сплетений (рис. 8 А, В).

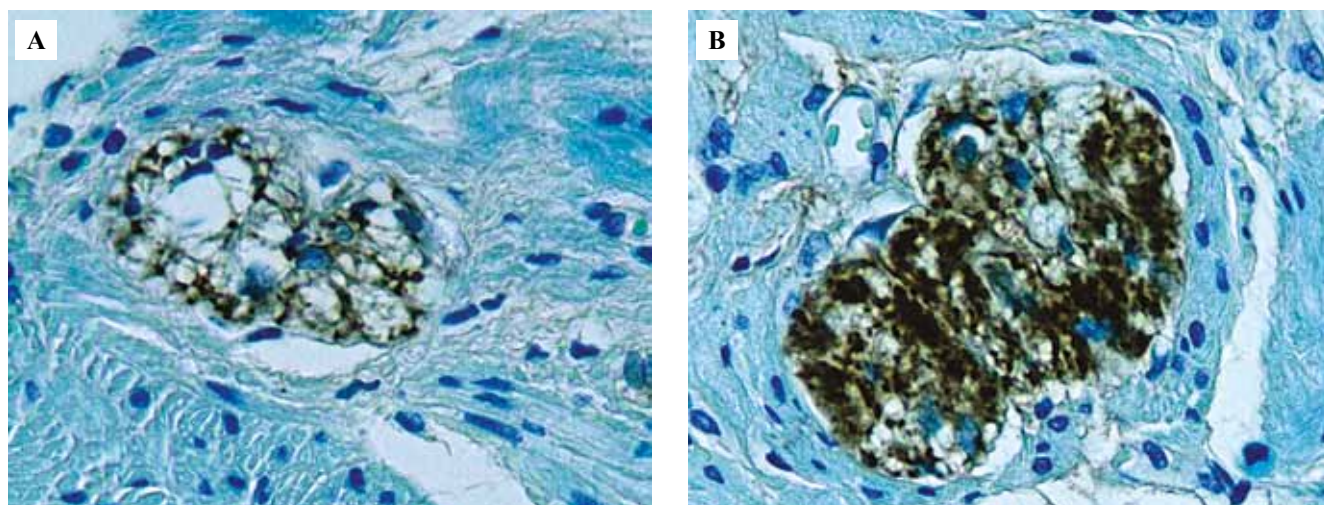


Рис. 7. Глиальные клетки в ганглиях кишки человека (А) и глиозный узелок на месте погибших нервных клеток (В) в ганглиях кишки пациентов с ХМТЗ. Иммуногистохимическая реакция на GFAP, подкрашивание толуидиновым синим, $\times 400$

Fig. 7. Glial cells of the human intestine ganglia (A) and a glial nodule at the site of dead nerve cells (B) in the intestine ganglia of patients with chronic slow transit constipation. Immunohistochemical reaction to GFAP, toluidine blue staining, $\times 400$

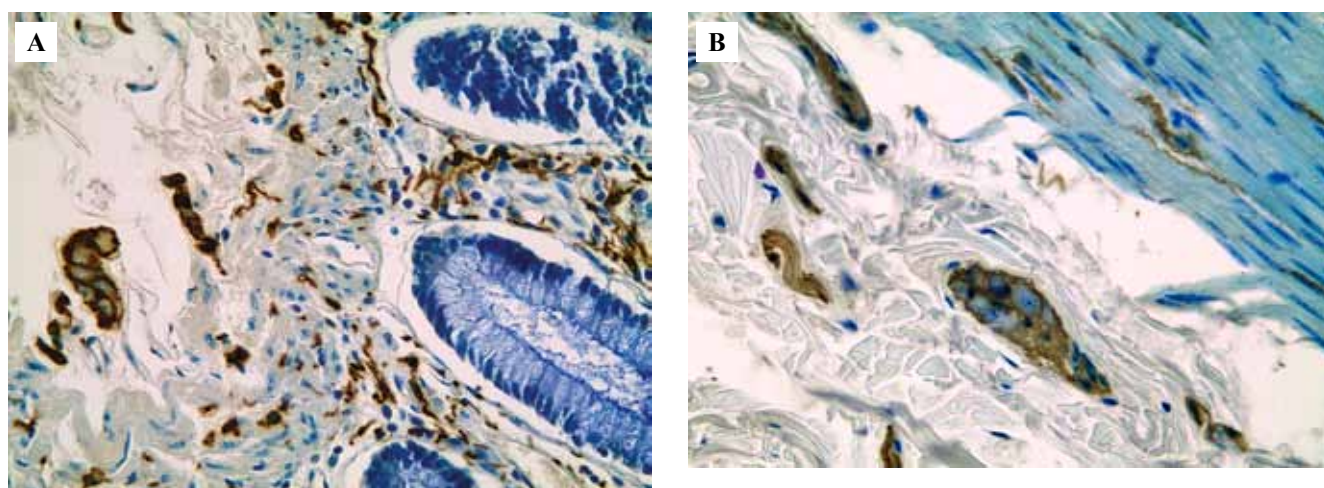


Рис. 8. S100⁺ сети из глиальных клеток в соединительной ткани крипт (А), в мышце и в виде сателлитов вокруг ганглиозных клеток подслизистой оболочки (ободочная кишка человека) (В), $\times 400$

Fig. 8. S100⁺ glial cells in the connective tissue of the crypts (A), in the muscle and around the ganglion cells of the submucosa as satellites [human colon] (B), $\times 400$

Серотонинсодержащие клетки в стенке кишки крысы и человека

Для успешного исследования серотонинсодержащих структур мы использовали антитела к 5-НТ (рис. 9). В качестве фиксирующей жидкости для исследуемого на серотонин материала следует применять 10% раствор формалина. С помощью ИГХ реакции на 5-НТ в стенке двенадцатиперстной кишки крысы были выявлены мелкие (9–15 мкм) серотонинсодержащие энтерохромаффинные клетки. Эти специализированные эндокриноциты имеют разную форму – овальную вытянутую, треугольную, неправильную и размеры от 10 до 15 мкм. Они локализуются главным образом между эпителиальными клетками ворсинок, но часть встречается в соединительной ткани слизистой обо-

лочки. Наличие разных размеров черно-коричневых 5-НТ⁺ гранул в цитоплазме свидетельствует об их секреторной функции.

Анализ срезов толстой кишки человека показал, что серотонинсодержащие энтерохромаффинные клетки в стенке кишечника локализуются преимущественно в эпителии крипт. Вопрос о функции и состоянии серотонинсодержащих структур в стенке кишки человека требует дальнейших углубленных исследований.

Гладкомышечные клетки

С помощью селективной ИГХ реакции на альфа-актин в стенке кишки крысы выявляются тяжи гладкомышечных клеток (ГМК) (рис. 10 А), имеющих

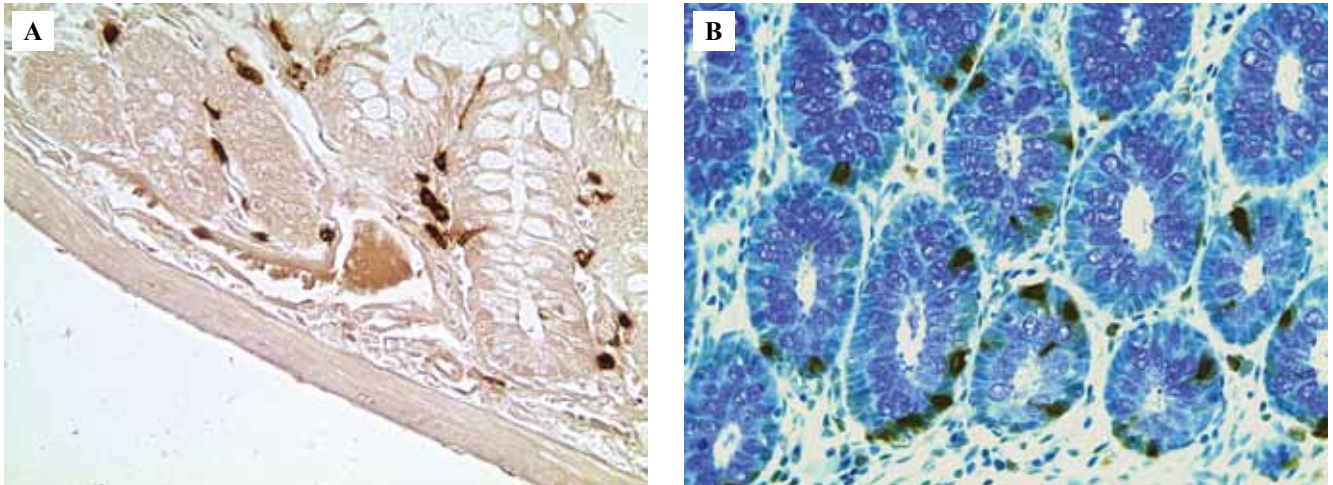


Рис. 9. Серотонинсодержащие клетки в стенке кишки крысы (А) и человека (В). Иммуногистохимическая реакция на серотонин, подкрашивание толуидиновым синим, $\times 400$

Fig. 9. Serotonin-containing cells in the intestinal wall of a rat (A) and a human (B). Immunohistochemical reaction for serotonin with toluidine blue staining, $\times 400$

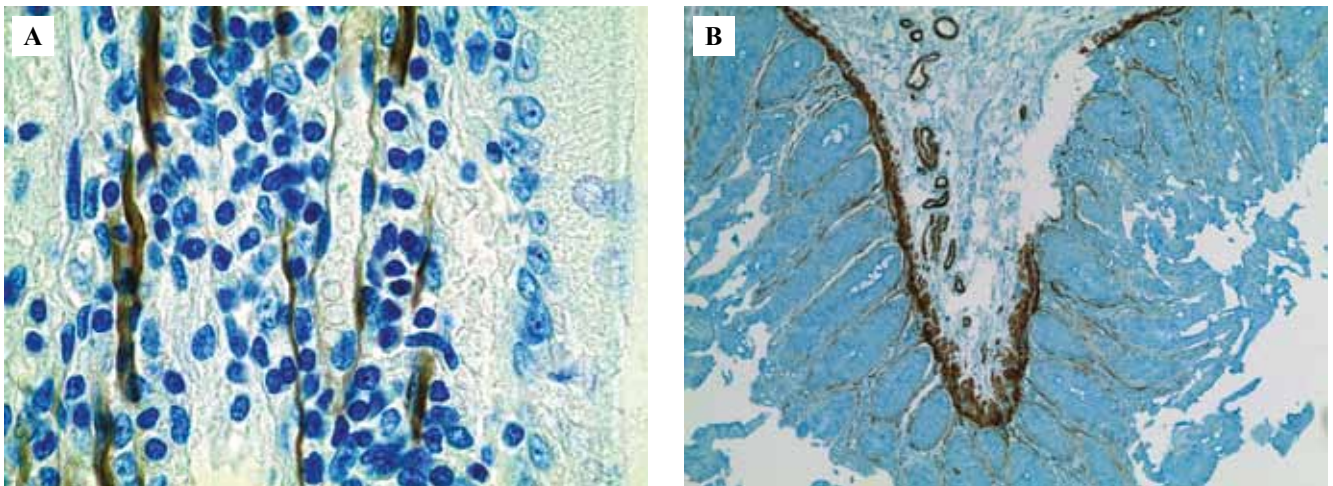


Рис. 10. Топография распределения гладкомышечных элементов в ворсинке стенки двенадцатиперстной кишки крысы (А) и в стенке ободочной кишки человека (В). Взаимоотношения сосудов, лимфоцитов и гладкомышечных клеток в ворсинке (А). Иммуногистохимическая реакция на альфа-актин. Подкрашивание толуидиновым синим (А), астровым синим (В), $\times 400$ (А), $\times 100$ (В)

Fig. 10. Topography of the distribution of smooth muscle cells in the duodenal wall in rat (A) and in the wall of the human colon (B). Relations between vessels, lymphocytes, and smooth muscle cells in the villus (A). Immunohistochemical reaction to alpha-actin. Toluidine blue staining (A), aster blue staining (B), $\times 400$ (A), $\times 100$ (B)

вытянутую форму и палочковидные ядра. Они следуют вдоль варикозных терминальных аксонов и сопровождают кровеносные, лимфатические сосуды и капилляры. Обращает на себя внимание, что Syn^+ терминальные аксоны, описанные нами ранее, находятся в тесных взаимоотношениях с ГМК и предположительно образуют с ними нейромышечные синапсы.

Селективный маркер гладкомышечных клеток альфа-актин позволил исследовать распределение ГМК в ободочной и сигмовидной кишке человека при патологии (рис. 10 В).

Маркеры клеток воспаления

Мы обнаружили редкие группы триптазосодержащих тучных клеток (ТК) в области основания крипт ободочной и сигмовидной кишки пациентов с ХМТЗ (рис. 11 А). По плотности популяции ТК можно судить о степени воспаления. Чаще всего они встречаются в рыхлой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки. Примененные нами антитела селективны к клеткам человека и не выявляют ТК у крыс.

Для исследования популяции клеток, относящихся к моноцитарно-макрофагальной линии, были приме-

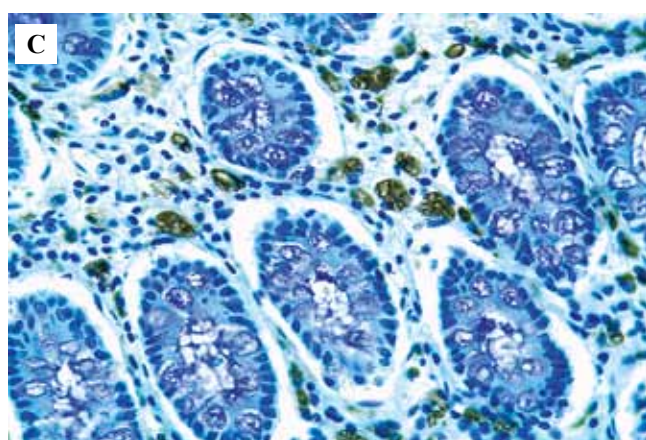
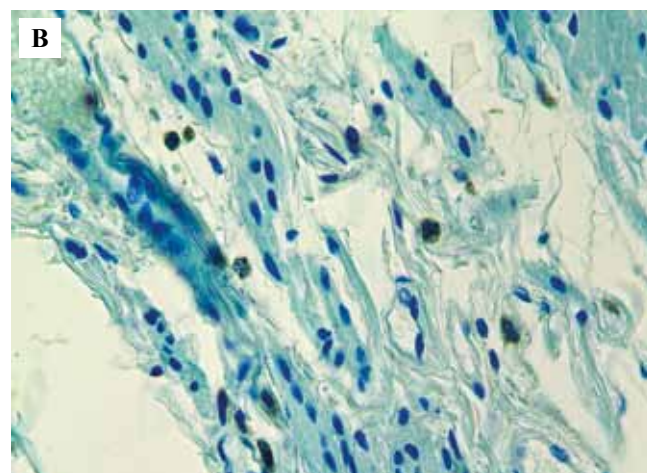
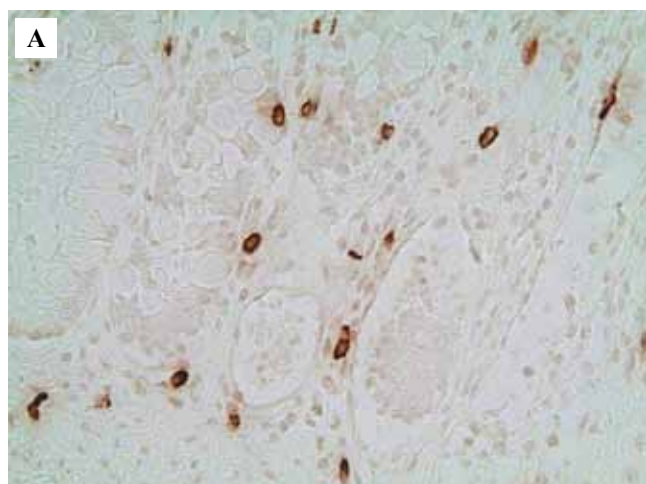


Рис. 11. Тучные клетки (А) и макрофаги (В, С) в стенке ободочной кишки человека. Иммуногистохимические реакции на триптазу (А) и на белок CD68 (В, С), подкрашивание толуидиновым синим (В, С), $\times 400$

Fig. 11. Mast cells (A) and macrophages (B, C) in the human colon. Immunohistochemical reaction to tryptase (A) and CD68 protein (B, C) with toluidine blue staining (B, C), $\times 400$

нены два маркера – CD68 (рис. 11 В, С) и белок Iba1. CD68 относится к интегральным трансмембранным белкам и экспрессируется на поверхности клеток моноцитарно-макрофагального ряда. Анализ распределения макрофагов в стенке ободочной и сигмовидной кишки человека показал, что в стенке кишки пациентов с ХМТЗ CD68⁺ макрофаги встречаются в собственной пластинке, в подслизистой основе слизистой оболочки и в слоях мышечной оболочки, но распределяются по слоям неравномерно. Клетки с небольшим округлым или овальным ядром, размером 7–8 мкм в диаметре, располагаются в основном вблизи кровеносных сосудов в периваскулярной рыхлой соединительной ткани среди лейкоцитарных клеток (рис. 11 В). Отдельные макрофагальные клетки встречаются по периметру интрамуральных ганглиев. Иногда можно видеть CD68⁺ моноциты в полости кровеносных сосудов. Основная масса макрофагов концентрируется в собственной пластинке слизистой оболочки, в соединительной ткани крипт. Многие из таких макрофагов достигают размеров до 20–30 мкм, имеют центрально расположенное ядро и пенистую цитоплазму (рис. 11 С).

Клетки, содержащие кальцийсвязывающий белок Iba1, локализуются в основном в соединительной ткани крипт. Отдельные клетки встречаются по периферии ганглиев межмышечного ганглиозного сплетения.

Обсуждение

В настоящей работе показано, что в органах пищеварительной системы крыс применение нейрональных (белок PGP 9.5, тирозингидроксилаза, синаптофизин) и глиальных (GFAP и белок S100) маркеров позволяет идентифицировать не только нервные структурные элементы (нейроны, нервные пучки, нервные сплетения, терминальные сети различной медиаторной природы), но и различные типы глии.

Сравнительное исследование с помощью ИГХ реакции на белок PGP 9.5 и тирозингидроксилазу позволяет выделить в нервных стволах поджелудочной железы и кишечника симпатические (PGP 9.5⁻/TH⁺) и парасимпатические (PGP 9.5⁺/TH⁻) нервные волокна. Было подтверждено, что в ганглиозных сплетениях стенки тонкой и толстой кишки симпатические нейроны отсутствуют.

С помощью иммуногистохимических реакций на синаптофизин, тирозингидроксилазу и белок PGP 9.5 в предыдущих исследованиях нами было показано, что с возрастом в эндокринных отделах и нервных структурах ПЖ крыс наблюдаются существенные изменения [6]. У старых крыс выявлены снижение общего количества островков Лангерганса и выраженная денервация тканей ПЖ. Отмечено уменьшение числа нейронов интрамуральных ганглиев, нервных стволов

и пучков, а также эфферентных парасимпатических и симпатических терминалей вокруг кровеносных сосудов и выводных протоков. Таким образом, было установлено снижение нейротрофического влияния симпатической и парасимпатической нервной системы на ПЖ при старении.

Следует отметить, что использование ИГХ реакций для выявления нейрональных и глиальных маркеров без дополнительного окрашивания срезов позволяет оценивать селективно выявляемые нервные и глиальные элементы и их взаимоотношения, а также проводить количественный анализ и морфометрические исследования этих структур.

Для изучения взаимоотношений нервных структур с клетками окружающих тканей мы рекомендуем использовать в качестве подкрашивания срезов толуидиновый синий, астровый синий или гематоксилин–эозин. На подкрашенных препаратах можно осуществлять анализ межтканевых взаимоотношений – нервно-мышечных, нервно-эпителиальных, нервно-сосудистых. Гистохимическое окрашивание толуидиновым синим позволяет также исследовать взаимоотношения нервных структур с воспалительными клетками инфильтратов, оценивать степень выраженности воспаления.

Наименее изученными структурными элементами энтеральной нервной системы являются глиальные клетки. В настоящее время активно ведутся исследования глии периферической нервной системы [8, 9], поскольку она выполняет множество функций, среди которых трофическая, барьерная, защитная и другие. Глиальные элементы нервных ганглиозных сплетений мы исследовали с помощью ИГХ выявления GFAP и белка S100. Эти реакции позволяют исследовать изменения в глиоцитах и в нейроглиальных взаимоотношениях. Ранее в работах, выполненных с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и иммуногистохимии [10, 11], в ганглиях энтеральной нервной системы животных и человека обнаружен уникальный тип глии – астроцитоподобные клетки, сходные по строению и функции с астроцитами центральной нервной системы, а также нейролеммоциты и шванновские клетки, свойственные вегетативным ганглиям. Среди GFAP⁺ астроцитоподобных элементов можно дифференцировать два вида клеток: мелкие – фиброзные и более крупные – плазматические глиальные клетки. Последние определяются по гомогенной цитоплазме и сильно уплощенным «разлапистым» отросткам. В настоящем исследовании отмечено, что в ганглиях с патологически измененными нейронами наблюдаются выраженный глиоз и образование очаговых скоплений глиоцитов. Эти факты согласуются с известными данными литературы об участии глиальных клеток в процессах гибели нейронов [10–13].

В гладкомышечных слоях стенки ЖКТ крыс и человека нами также было отмечено наличие большого числа глиальных клеток. Топографическое сопоставление ИГХ реакций на PGP 9.5 и на глиальные маркеры

показывает, что сети из PGP 9.5⁺ иммунореактивных аксонов и из S100⁺ и GFAP⁺ глиальных клеток образуют единое терминальное сплетение из комплементарных нейроглиальных элементов, так называемых ремаковских волокон. Последние состоят из тончайших аксонов различной медиаторной природы, заключенных в «глиальный синцитий», описанный известными нейроморфологами еще в прошлом столетии. Разные исследователи описывают их как интерстициальные клетки Кахалы или дендритные клетки [14–16].

Применение нейрональных (белок PGP 9.5, тирозингидроксилаза, синаптофизин) и глиальных (GFAP и белок S100) маркеров позволяет идентифицировать нервные структуры в стенке толстой кишки человека, а также выявлять их патологические изменения у пациентов с ХМТЗ. Показано, что при развитии заболевания наблюдаются дистрофические и дегенеративные изменения нейронов, деструктивные изменения нервных проводников, зернистый распад терминалей. Исследование глии периферической нервной системы в настоящее время особо актуально, что связано с важной ролью этих клеток в нормальном функционировании нейронов миентерального и подслизистого сплетений.

Известно, что ХМТЗ наряду с такими социально значимыми заболеваниями как болезнь Крона, синдром раздраженного кишечника, язвенный колит сопровождается развитием воспалительных процессов в подслизистой основе и собственной пластинке слизистой оболочки. Для исследования воспалительных процессов мы воспользовались несколькими методами ИГХ выявления моноцитов/макрофагов и тучных клеток.

Как известно, ТК обеспечивают жизненно важные функции тканей и органов, а также, инициируя воспаление, участвуют в патогенезе многих заболеваний кишечника. Одним из методов выявления ТК на гистологических срезах является ИГХ реакция на синтезируемые ими ферменты – химазу и триптазу. В настоящем исследовании мы обнаружили редкие группы триптазосодержащих ТК в области основания крипт ободочной и сигмовидной кишки пациентов с ХМТЗ. По плотности популяции ТК можно судить о степени воспаления. Чаще всего они встречаются в рыхлой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки. Известно, что в иммуногистохимических исследованиях, касающихся определения химаз и триптаз, для адекватного их выявления следует учитывать видовые различия распределения этих протеаз в тучных клетках млекопитающих и человека [17]. Нужно отметить, что примененные нами антитела селективны к клеткам человека и не выявляют ТК у крыс.

Для выявления клеток моноцитарно-макрофагального ряда были применены антитела к белку CD68 и белку Iba1. CD68 относится к интегральным трансмембранным белкам и экспрессируется на

поверхности клеток моноцитарно-макрофагального ряда [18]. Кальцийсвязывающий белок Iba1 содержится в клетках микроглии и в тканевых макрофагах разных органов [19]. Используемые в настоящей работе антитела к триптазе и белку CD68 являются селективными для клеток человека и не выявляются в клетках грызунов.

С помощью антител к альфа-актину были изучены гладкомышечные клетки в стенке кишки крысы и человека. Отмечена взаимосвязь ГМК с Syn⁺ терминальными аксонами. Факты обнаружения в ворсинках терминалей варикозных аксонов и их тесных связей с клетками рыхлой соединительной ткани и эндотелием лимфатических сосудов и капилляров свидетельствуют о том, что нервные структуры внутри ворсинок могут участвовать не только в регуляции моторной, рецепторной и нейротрофической функций, но и в поддержании гомеостаза слизистой оболочки, которая служит первым тканевым барьером на границе с кишечной полостью и микробиотой.

Примененные в настоящей работе антитела к альфа-актину позволяют селективно выявлять гладкомышечные клетки в материале, полученном и от крысы, и от человека. По локализации ГМК в ворсинках кишки можно сделать выводы об их тесной связи с варикозными аксонами, иннервирующими ворсинки, а также эндотелием лимфатических сосудов и капилляров.

Заключение

В работе представлены результаты применения основных иммуногистохимических маркеров, позволяющих исследовать иннервацию органов пищеварительной системы. Протоколы окрашивания тканей человека с применением нейральных (белок PGP 9.5, тирозингидроксилаза, синаптофизин, серотонин) и глиальных (глиальный фибриллярный кислый белок и белок S100) маркеров были первоначально отработаны нами на материале, полученном от лабораторных животных. Показано, что комплекс этих маркеров позволяет идентифицировать все нервные структуры в органах пищеварительной системы крыс: нейроны, нервные пучки, нервные сплетения, терминальные сети различной медиаторной природы.

В дальнейшем оказалось, что большинство из них с учетом особенностей фиксации применимо для изучения кишечника человека и позволяет проводить оценку изменений нервных структур в толстой кишке пациентов с хроническим медленнотранзитным запором. Показано, что сравнительное исследование препаратов с ИГХ реакцией на белок PGP 9.5 и тирозингидроксилазу помогает различить симпатические (PGP 9.5⁻/TH⁺) и парасимпатические (PGP 9.5⁺/TH⁻) структуры. Отмечено, что симпатические нейроны отсутствуют в изученном материале.

Установлено, что отработанные ИГХ методы дают возможность оценивать иннервацию кишечной стен-

ки и особенности ее изменения при патологии. В работе показано, что для подкрашивания препаратов с ИГХ реакциями на соответствующие белки следует использовать несколько гистологических красителей – толуидиновый синий, астровый синий и гематоксилин–эозин. На подкрашенных препаратах можно осуществлять анализ не только выявленных иммунопозитивных структур, но и окружающих их тканей. Это дает возможность изучить морфологию и локализацию, а также нейроглиальные, нервно-мышечные, нервно-эпителиальные, нервно-сосудистые взаимоотношения. Кроме того, гистохимическое окрашивание толуидиновым синим позволяет исследовать взаимоотношения нервных элементов с лейкоцитами, а также проявление нейрогенного воспаления. Дополнительное применение специальных ИГХ маркеров клеток воспаления – моноцитов/макрофагов и тучных клеток – показало, что с их помощью можно детально описать особенности развития воспалительного процесса в слизистой оболочке кишки.

В работе дана оценка применению различных антител, подчеркиваются их видоспецифичность и зависимость результата иммуногистохимической реакции от фиксирующих жидкостей.

Описанная методология перспективна для использования в экспериментальной гистологии и клинико-морфологической диагностике.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Д.Э. Коржевский, Е.И. Чумасов.

Сбор и обработка материала – В.Б. Самедов, Е.С. Петрова, Е.А. Колос.

Написание текста – Е.И. Чумасов, Д.Э. Коржевский.

Редактирование – Д.Э. Коржевский.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – D.E. Korzhevskii, E.I. Chumasov.

Collected the data and performed the analysis – V.B. Samedov, E.S. Petrova, E.A. Kolos.

Wrote the paper – E.I. Chumasov, D.E. Korzhevskii.

Edited the manuscript – D.E. Korzhevskii.

Литература/References

1. *Майстренко Н.А., Ромащенко П.Н., Лысанюк М.В.* Диагностика и хирургическое лечение нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта. *Анналы хирургической гепатологии*. 2016;21(1):13–20. DOI: 10.16931/1995-5464.2016113-20.
Maystrenko NA, Romashchenko PN, Lysanyuk MV. Diagnosis and surgical treatment of neuroendocrine tumors of the pancreas and gastrointestinal tract. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB Surgery*. 2016;21(1):13–20 (In Russ.). DOI: 10.16931/1995-5464.2016113-20.
2. *Сазонов А.А., Майстренко Н.А., Ромащенко П.Н.* Молекулярно-биологические аспекты прогнозирования онкологической эффективности циторедуктивных операций при метастатическом раке толстой кишки. *Вестник Российской Военно-*

- медицинской академии. 2021;23(3):61–66. DOI: 10.17816/brmma73188.
- Sazonov AA, Maistrenko NA, Romashchenko PN.* Molecular and biological aspects of forecasting the oncological efficiency of cytoreductive surgery in metastatic colon cancer. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2021;23(3):61–66. DOI: 10.17816/brmma73188.
3. *Кривова Ю.С., Прощина А.Е., Отлыга Д.А., Савельев С.В.* Применение антител к везикулярному транспортеру ацетилхолина и ацетилхолинэстеразе в исследованиях пренатального развития парасимпатической иннервации поджелудочной железы человека. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2020;9(3):27–33. DOI: 10.31088/CEM2020.9.3.27-33. *Krivova YS, Proshchina AE, Otylga DA, Saveliev SV.* Application of antibodies to the vesicular transporter of acetylcholine and acetylcholinesterase in the studies of prenatal development of parasympathetic innervation of the human pancreas. *Clinical and experimental morphology.* 2020;9(3):27–33 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2020.9.3.27-33.
 4. *Кривова Ю.С., Прощина А.Е., Отлыга Д.А., Савельев С.В.* Распределение виментина в эпителиальных клетках поджелудочной железы человека в период внутриутробного развития. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2017;2(22):21–27. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29946262> (получено 08.08.2022). *Krivova YuS, Proshchina AE, Otylga DA, Saveliev SV.* Distribution of vimentin in the human pancreatic epithelial cells during prenatal development. *Clinical and experimental morphology.* 2017;2(22):21–27 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29946262> (accessed 08.08.2022).
 5. *Krivova YS, Proshchina AE, Barabanov VM, Barinova IV, Saveliev SV.* Immunohistochemical detection of vimentin in pancreatic islet β - and α -cells of macrosomic infants of diabetic and nondiabetic mothers. *Early Hum Dev.* 2018;117:44–9. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2017.12.009.
 6. *Чумасов Е.И., Колос Е.А., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э.* Иммуногистохимия периферической нервной системы. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2020. 111 с. Доступно по адресу: <https://speclit.ru/image/catalog/978-5-299-01086-2/978-5-299-01086-2.pdf> (получено 11.07.2022). *Chumasov EI, Kolos EA, Petrova ES, Korzhevskii DE.* Immunohistochemistry of the peripheral nervous system. Saint Petersburg, SpecLit, 2020. 111 p. (In Russ.). Available from: <https://speclit.ru/image/catalog/978-5-299-01086-2/978-5-299-01086-2.pdf> (accessed 11.07.2022).
 7. *Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э.* Исследование иннервации двенадцатиперстной кишки крысы с использованием нейтральных иммуногистохимических маркеров. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2020;106(7):853–865. DOI: 10.31857/S0869813920100039. *Chumasov EI, Petrova ES, Korzhevskii DE.* Study of the rat duodenal innervations using immunohistochemical markers. *Russian Journal of Physiology.* 2020;106(7):853–865. DOI: 10.31857/S0869813920100039.
 8. *Grundmann D, Loris E, Maas-Omlor S, Huang W, Scheller A, Kirchoff F et al.* Enteric glia: S100, GFAP, and beyond. *Anat Rec (Hoboken).* 2019;302(8):1333–44. DOI: 10.1002/ar.24128.
 9. *Yuan R, Bhattacharya N, Kenkel JA, Shen J, DiMaio MA, Bagchi S et al.* Enteric glia play a critical role in promoting the development of colorectal cancer. *Front Oncol.* 2020;10:595892. DOI: 10.3389/fonc.2020.595892.
 10. *Wedel T, Roblick UJ, Ott V, Eggers R, Schiedeck TH, Krammer HJ et al.* Oligoneuronal hypoganglionosis in patients with idiopathic slow-transit constipation. *Dis Colon Rectum.* 2002;45(1):54–62. DOI: 10.1007/s10350-004-6114-3.
 11. *Gulbransen BD, Sharkey KA.* Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9(11):625–32. DOI: 10.1038/nrgastro.2012.138.
 12. *Жаботинский Ю.М.* Нормальная и патологическая морфология нейрона. Ленинград: Медицина, 1965. 328 с. *Zhabotinsky YuM.* Normal and pathological neuron morphology. Leningrad: Medizina, 1965. 328 p. (In Russ.).
 13. *Ярыгин Н.Е., Ярыгин В.Н.* Патологические и приспособительные изменения нейронов. Москва: Медицина, 1973. 191 с. *Yarygin NE, Yarygin VN.* Pathological and adaptive changes in neurons. Moscow: Medicine, 1973. 191 p. (In Russ.).
 14. *Лаврентьев Б.И.* Теория строения вегетативной нервной системы: избранные труды. Москва: Медицина, 1983. 256 с. *Lavrentiev BI.* Theory of the structure of the autonomic nervous system: best studies. Moscow: Medicine, 1983. 256 p. (In Russ.).
 15. *Маркова В.И., Марков И.И., Ваньков В.А., Севрюгина Г.А.* Синцитиальные связи нейроцитов – есть ли они в ганглиях межмышечного и подслизистого сплетения кишечника? *Морфологические ведомости.* 2017;25(1):23–25. Доступно по адресу: <https://www.morpholetter.com/jour/article/view/11> (получено 11.07.2022). *Markova BI, Markov II, Vankov VA, Sevryugina JA.* Neurocyte syncytial connections: are they found in ganglia of the intermuscular and of the submucous intestine plexuses? *Morphological newsletter.* 2017;25(1):23–25 (In Russ.). Available from: <https://www.morpholetter.com/jour/article/view/11> (accessed 11.07.2022).
 16. *Сотников О.С., Сергеева С.С., Васягина Т.И.* Нейронально-глиальные мембранные контакты при пессимальной электростимуляции. *Морфологические ведомости.* 2020;28(3):35–50. DOI: 10.20340/mv-mn.2020.28(3)35-50. *Sotnikov OS, Sergeeva SS, Vasyagina TI.* Neuronal-glia membrane contacts during pessimal electrical stimulation. *Morphological newsletter.* 2020;28(3):35–50. DOI: 10.20340/mv-mn.2020.28(3)35-50.
 17. *Grigorev IP, Korzhevskii DE.* Modern imaging technologies of mast cells for biology and medicine (review). *Sovrem Tehnologii Med.* 2021;13(4):93–107. DOI: 10.17691/stm2021.13.4.10.
 18. *Holness CL, da Silva RP, Fawcett J, Gordon S, Simmons DL.* Macrosialin, a mouse macrophage-restricted glycoprotein, is a member of the lamp/lgp family. *J Biol Chem.* 1993;268(13):9661–6. PMID: 8486654.
 19. *Enderes J, Malleth S, Schneider R, Hupa KJ, Lysson M, Schneider B et al.* A population of radio-resistant macrophages in the deep myenteric plexus contributes to postoperative ileus via toll-like receptor 3 signaling. *Front Immunol.* 2021;11:581111. DOI: 10.3389/fimmu.2020.581111.

Информация об авторах

Евгений Иванович Чумасов – доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Елена Сергеевна Петрова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Вадим Бейбалаевич Самедов – адъюнкт при кафедре факультетской хирургии имени С.П. Федорова Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова.

Елена Андреевна Колос – научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Дмитрий Эдуардович Коржевский – доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующий лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Author information

Evgeny I. Chumasov – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Senior Researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Local Morphology, Institute of Experimental Medicine.

<http://orcid.org/0000-0003-4859-6766>

Elena S. Petrova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Local Morphology, Institute of Experimental Medicine.

<https://orcid.org/0000-0003-0972-8658>

Vadim B. Samedov – Post-graduate student, S.P. Fedorov Faculty of Surgery, S.M. Kirov Military Medical Academy.

<https://orcid.org/0000-0002-4002-6913>

Elena A. Kolos – Researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Local Morphology, Institute of Experimental Medicine.

<https://orcid.org/0000-0002-9643-6831>

Dmitry E. Korzhevskii – Dr. Sci. (Med), Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Local Morphology, Institute of Experimental Medicine.

<https://orcid.org/0000-0002-2456-8165>