

ПОЛИМОРФИЗМ ИНТРАМУРАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ И ЭФФЕРЕНТНЫХ НЕЙРОНОВ РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ ЖЕЛЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ



Дехканов Ташпулат Дехканович, Блинова Софья Анатольевна, Орипов Фирдавс Суръатович, Дехканова Нилуфар Ташпулатовна, Рахмонова Хабиба Нуруллаевна Самаркандский государственный медицинский университет, Республика Узбекистан, г. Самарканд

ЎТ АЖРАТИШ ЙЎЛЛАРИНИНГ ТУРЛИ ҚИСМЛАРИДАГИ ИНТРАМУРАЛ НЕРВ ТУГУНЛАРИ ВА ЭФФЕРЕНТ НЕЙРОНЛАРНИНГ ПОЛИМОРФИЗМИ

Дехконов Тошпулат Дехконович, Блинова Софья Анатольевна, Орипов Фирдавс Суръатович, Дехконова Нилуфар Тошпулатовна, Рахмонова Хабиба Нуруллаевна Самарканд давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон Республикаси, Самарканд ш.

POLYMORPHISM OF INTRAMURAL GANGLIA AND EFFERENT NEURONS IN DIFFERENT DIRECTIONS OF THE BILE EXTRACTION SYSTEM

Dekhkonov Toshpulat Dekhkonovich, Blinova Sofia Anatolyevna, Oripov Firdavs Suratovich, Dekhkonova Nilufar Toshpulatovna, Rakhmonova Khabiba Nurullaevna Samarkand State Medical University, Republic of Uzbekistan, Samarkand

e-mail: sofiya2709@mail.ru

Резюме. Ўт пуфагининг нерв тугунлари шу аъзонинг мушак ва эпителий хужайраларининг ишига таъсир қилувчи мураккаб модулятор ўзаро таъсир этувчи қисми бўлиб ҳисобланади. Тадқиқотнинг мақсади жигардан ташқари ўт йўллари, ўт пуфаги интрамурал нерв тугунлари ва эфферент нейронлари морфологиясининг хусусиятларини аниқлашдан иборат. 12 та итда, улардан 6 тасида ўнг томонли цервикал ваготомия ўтказилди, умумий ўт йўли, жигар ичи ўт йўли ва ўт пуфаги девори интрамурал нерв аппарати морфометрик ва нейрогистологик усуллар (Билшовский-Грос усули ва Кампос бўйича кумуш нитрат сингдириши) билан ўрганилди. Энг катта нерв тугунлари ўт пуфагининг деворида (айниқса, ўт пуфаги бўйин қисмида) ва умумий ўт йўлида жойлашади. Жигар йўллариининг деворида майда микроганглиялар, шунингдек, яқка тартибда нейроцитлар жойлашади. Ўт пуфаги ва жигардан ташқари ўт йўллариининг интрамурал нерв аппаратида эфферент нейронлар танасининг шакли аниқ ифодаланган полиморфизми кузатилади. Эфферент нейроцитлар жойлашишининг энг кичик зичлиги ўт пуфагининг туби ва танаси соҳасида қайд этилади. Танаси ва туби билан солиштирилганда сезиларли даражада кўпроқ улар ўт пуфагининг бўйин соҳасида жойлашади. Нейронлар жойлашишининг энг юқори зичлиги умумий ўт йўлида кузатилади. Узун аксонли нейроцитларда ваготомиядан сўнг аниқланган гиперимпрегнацияланган ва гипертрофияланган синаптик учлари уларнинг эфферент парасимпатик нейронларга тегишли эканлигини тасдиқлайди. Гигант ва икки ядроли эфферент нейроцитларнинг мавжудлиги, уларнинг юзасида транзитор контактлар, шунингдек, дендритик ламеллаларнинг шаклланиши морфологик жиҳатдан эфферент нейронларнинг юқори функционал фаоллигини акс эттиради.

Калим сўзлар: ўт йўллари тизими, ўт пуфаги, жигардан ташқари ўт йўллари, интрамурал нерв тугунлари, эфферент нейроцитлар.

Abstract: The gallbladder ganglia are sites of complex modulatory interactions that ultimately affect the function of muscle and epithelial cells in an organ. The aim of the study was to identify the morphological features of intramural ganglia and efferent neurons of the gallbladder, extrahepatic biliary tract. The intramural nervous apparatus of the gallbladder wall, common bile duct and hepatic ducts in 12 dogs were studied using neurohistological methods (impregnation with silver nitrate according to the Bilshovsky-Gros method and according to Campos) and morphometrically studied the intramural nervous apparatus of the gallbladder wall, common bile duct and hepatic ducts in 12 dogs, of which 6 animals underwent right-sided cervical vagotomy. The largest nerve ganglia are located in the wall of the gallbladder (especially in the neck of the bladder) and in the common bile duct. In the wall of the hepatic ducts there are small microganglia, as well as single neurocytes. In the intramural nervous apparatus of the gallbladder and extrahepatic bile ducts, the shape of the bodies of efferent neurons is characterized by pronounced polymorphism. The lowest density of the location of efferent neurocytes is observed in the area of the bottom and body of the gallbladder. Reliably more, in comparison with the body and bottom, they are located in the neck of the gallbladder. The highest density of neurons is found in the common bile duct. The hyperimpregnated and hypertrophied synaptic endings on longaxon neurocytes that we found after vagotomy confirm their belonging to efferent parasympathetic neurons. The

presence of giant and binuclear efferent neurocytes, transient contacts on their surface, as well as the formation of dendritic lamellae, morphologically reflect the high functional activity of efferent neurons.

Keywords: *biliary system, gallbladder, extrahepatic biliary tract, intramural ganglia, efferent neurocytes.*

Контроль пищеварения осуществляется через энтеральную систему, центральную нервную систему и интегративные центры в симпатических ганглиях. Степень, в которой энтеральная и центральная нервная система контролируют пищеварение, значительно отличается вдоль пищеварительного тракта [10,15]. Энтеральная нервная система признается сложной нейронной сетью, управляющей различными клеточными популяциями, включая гладкомышечные клетки, слизистые секреторные клетки, эндокринные клетки, микроциркуляторное русло, иммунные и воспалительные клетки. Эта сеть организована в нескольких сплетениях, каждое из которых обеспечивает вполне автономный контроль функций желудочно-кишечного тракта [8,10,13]. Изучению морфологии нейронов пищеварительного тракта посвящены классические [1,2], а также исследования XXI века. Иммуногистохимическое определение наличия или отсутствия нейронального вещества (т. е. химическое кодирование кишечных нейронов) стало эффективным и легко применимым инструментом для различения типов кишечных нейронов у морской свинки, а затем и у других видов. Эти клетки впервые были описаны Stach в 2000 году у свиней и морских свинок как нейроны IV типа. Не обнаружено каких-либо химических веществ, специфичных для этих трёх видов эфферентных нейронов ЭНС. Общим для них является содержание холинацетилтрансферазы, причем она тоже содержится не во всех видах колючих нейронов. Морфологическая и химическая гетерогенность нейронов ЭНС может быть связана с наличием их региональных особенностей, что было установлено рядом исследователей. Этому могут способствовать все доступные методические подходы, как “классические”, так и “современные” [6]. Таким образом, широкое использование иммуногистохимии для изучения иннервации органов желчевыделительной системы [7,11,14] не умаляет эффективности традиционных нейрогистологических методов, так как до настоящего времени классификация нейронов ЭНС основывается на их морфологических особенностях. В связи с этим такие исследования могут быть продолжены для изучения разных отделов пищеварительного тракта, в частности, желчевыделительной системы [16] в сравнительном аспекте её составных частей.

Целью настоящего исследования явилось выявление особенностей морфологии интрамуральных ганглиев и эфферентных нейронов желчного пузыря, внепеченочных

желчных путей с помощью импрегнации азотнокислым серебром.

Материал и методы. Изучен интрамуральный нервный аппарат стенки желчного пузыря, общего желчного протока и печеночных протоков у 12 собак. Из них 6 животных подвергали правосторонней шейной ваготомии с целью выявления синаптических окончаний на нейронах интрамуральных ганглиев отделов желчевыделительной системы. Все опыты, содержание и забой животных проведены согласно разрешению и строго по требованиям этического комитета Республики Узбекистан. Ваготомии выполняли под этаминал-натриевым наркозом, для этого 5% раствор вещества вводили собакам внутривенно. Исследования этих животных проводили через 3 дня после операции. Эвтаназию животных проводили под этаминал-натриевым наркозом с последующей перерезкой брюшной части аорты. Желчный пузырь и внепеченочные желчные протоки фиксировали в 12% нейтральном формалине в натянутом виде при помощи деревянных игл на парафиновой пластинке. Формалин нейтрализовали насыщенным раствором тетраборнокислого натрия. Реакцию формалина периодически проверяли универсальным индикатором РКС, обработку материала начинали при первых сдвигах реакции в кислую сторону. Срезы толщиной 75-100 мкм получены с помощью микротом-криостата МК-25. Срезы импрегнировали азотнокислым серебром по методу Бильшовского-Грос и по Кампосу, в некоторых случаях срезы дополнительно окрашивали кармином. Среднее число эфферентных нейронов определяли путем их подсчета в интрамуральных ганглиях в различных отделах желчевыделительной системы при увеличении микроскопа об.20, ок.10. Для математической обработки данных применен метод Стьюдента с определением средней арифметической M , средней ошибки относительных величин m и коэффициента достоверности разности t . Различия устанавливались как достоверные при $P < 0,05$. Гистологические препараты изучали и фотографировали с использованием микроскопа «Leica GME» («Leica», Индия), сопряжённого с цифровой камерой «Leica EC3» («Leica», Сингапур), и с компьютером Pentium IV. Обработка фотографий проводилась с помощью прикладных программ Windows Professional.

Результаты и обсуждение. Обе импрегнационные методики показали идентичные результаты. В стенке желчного пузыря и внепеченочных желчных протоков собак

обнаружены интрамуральные нервные узлы с разным числом нейроцитов. В стенке желчного пузыря (особенно в области шейки пузыря) и общего желчного протока располагаются наиболее крупные нервные ганглии, содержащие множество нейронов. Нервные узлы расположены на месте перекреста пучков нервных волокон. В стенке печеночных протоков находятся небольшие микроганглии с малым числом нервных клеток, а также одиночные нейроциты. В собственной пластинке слизистой оболочки во всех отделах желчевыделительной системы обнаруживаются одиночные нейроны. Они располагаются на месте перекреста пучков нервных волокон и очень редко в составе самих пучков.

В стенке органов желчевыделительной системы обнаруживаются все виды вегетативных нервных клеток (клетки Догеля трёх типов) и гигантские нервные клетки. Большим полиморфизмом локализации и формы обладают клетки Догеля I типа (длинноаксонные нейроциты). Характерным для этих нейронов является наличие толстого и длинного аксона, по этим показателям превышающего дендриты. Длинноаксонные нейроциты импрегнируются интенсивнее остальных клеток (рис. 1).

Эти нейроны чаще обнаруживаются в местах локализации сфинктеров

желчевыделительной системы. Гиперимпрегнированный аксон этих клеток на препаратах прослеживается на значительном расстоянии и часто вступает в пучок нервных волокон. В составе пучка они также до определенного расстояния выделяются интенсивной импреграцией от остальных нервных волокон пучка.

Форма тел эфферентных нейронов обычно неправильная. В общем желчном протоке также встречаются нейроциты с телом конусовидной формы. В области слияния печеночных протоков, пузырного с общим желчным протоком встречаются и другие (овальные, веретенообразные) формы тел нейроцитов.

Нередко к эфферентным нейронам подходят отдельные гиперимпрегнированные нервные волокна, которые образуют вокруг его тела перичеселлюлярное образование с транзиторными контактами. Транзиторные контакты формируются в местах наиболее тесного прилегания нервного волокна к телу нейроцита. Нами также обнаружены нервные клетки по форме похожие на клетки I типа Догеля с нейрофибрилярными пластинками (дендритические ламеллы) и двухъядерные (рис. 2).

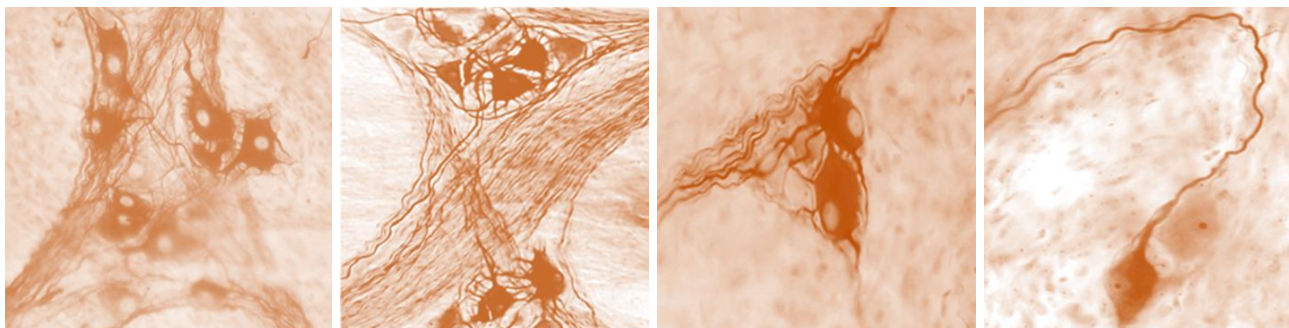


Рис. 1. Эфферентные нейроны (клетки Догеля I типа) в составе нервного узла шейки желчного пузыря (А), общего желчного протока (Б), в области слияния печеночных протоков (В), пузырного и общего желчного протоков (Г). Импрегнация по Бильшовскому-Грос (А,В,Г) и по Кампосу (Б). Ув.200.

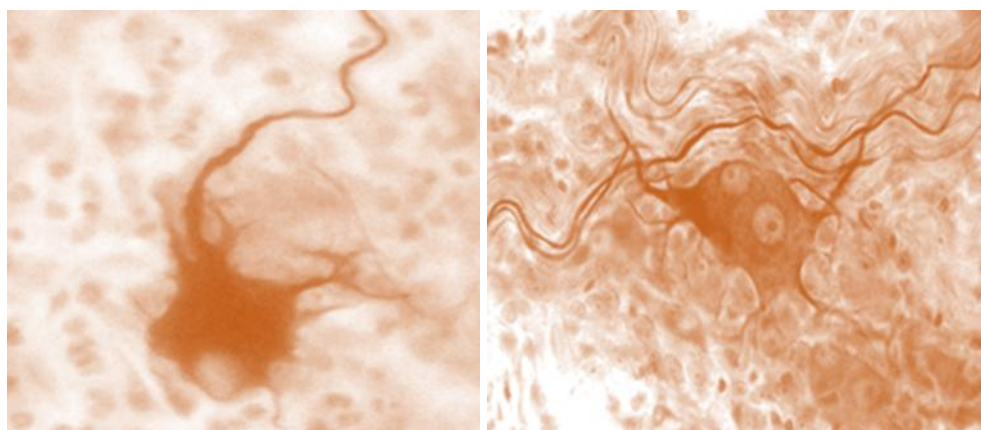


Рис. 2. Длинноаксонный нейроцит с нейрофибрилярными пластинками (А) и двухъядерный нейрон в стенке желчного пузыря собаки (Б). Импрегнация по Бильшовскому-Грос. Ув.400.

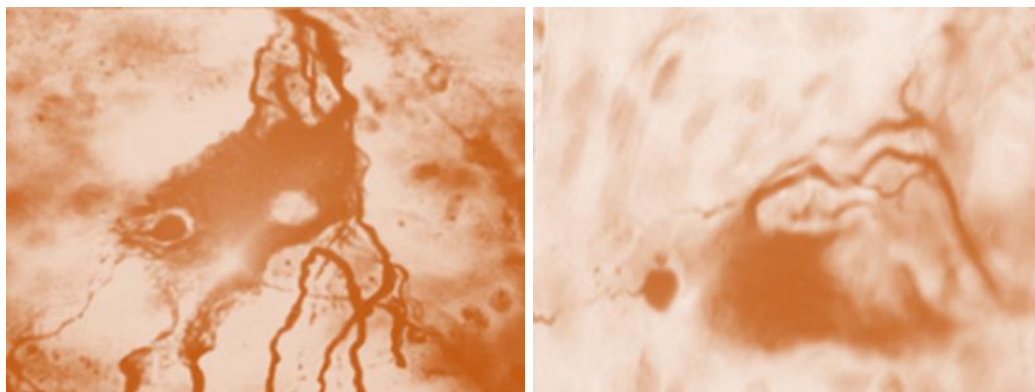


Рис. 3. Гипертрофированные синаптические окончания на теле длинноаксонных нейронов на 3 сутки после правосторонней ваготомии. Импрегнация по методу Бильшовского-Грос. Ув.400.

Изучение сравнительной плотности распределения длинноаксонных нейроцитов по отделам желчевыделительной системы показало, что наименьшая их плотность отмечается в области дна и тела желчного пузыря ($1,9 \pm 0,09$). Достоверно больше, по сравнению с телом и дном, их находится в области шейки желчного пузыря ($3,4 \pm 0,12$, $P < 0,05$). Наибольшая плотность нейронов отмечается в общем желчном протоке ($4,7 \pm 0,14$, $P < 0,05$).

После правосторонней шейной ваготомии на эфферентных нейронах желчевыделительной системы обнаруживаются гипертрофированные и гиперимпрегнированные синаптические окончания. Большинство из них заканчиваются на теле нейроцитов, образуя аксосоматические синапсы (рис. 3).

Проведенное исследование показало, что в интрамуральном нервном аппарате желчного пузыря и внепеченочных желчных протоков нервные узлы и эфферентные нейроны обладают выраженным полиморфизмом. Следует отметить, что изменение числа нейроцитов в интрамуральных ганглиях обнаружены также в разных отделах тонкого кишечника. Количество нейронов в ганглиях постепенно уменьшается в направлении от двенадцатиперстной кишки к конечным участкам тощей кишки морских свинок от 48 до 4 [3]. Обнаруженные нами после ваготомии гиперимпрегнированные и гипертрофированные нервные окончания на длинноаксонных нейроцитах подтверждают их принадлежность к эфферентным парасимпатическим нейронам. Предполагается, что все нейроны желчного пузыря, являются холинергическими, поскольку все они экспрессируют иммунореактивность к холинацетилтрансферазе. Большинство этих нейронов также экспрессируют вещество P, нейропептид Y и соматостатин, а небольшая популяция нейронов экспрессируют вазоактивный кишечный пептид (ВИП), иммунореактивность и ферментативную активность НАДФН-диафоразы. Как было установлено, активность НАДФН-диафоразы, иммунореактив-

ность синтазы оксида азота и иммунореактивность VIP экспрессируются одними и теми же нейронами в желчном пузыре морских свинок [12]. Содержание различных веществ, возможно, связано с различной функциональной значимостью эфферентных нейронов и отражается на их морфологии, обуславливая полиморфизм. Обнаруженные нами гигантские и двухъядерные эфферентные нейроциты, транзитные контакты на их поверхности, а также образование дендритических ламелл морфологически характеризуют высокую функциональную активность некоторых нейронов. Подобные структуры на дендритах эфферентных нейроцитов описаны также Б.И.Лаврентьевым при исследовании citoархитектоники межмышечных ганглиев желудка и пищевода. Этим способом дендриты клеток I типа и образованные ими ламеллы увеличивают поверхность тела клеток и служат для восприятия раздражения, приходящего по перичеселлюлярным аппаратам [2]. Различная функциональная направленность нейроцитов показана также при изучении их развития. Установленная асинхронность развития нейронов представляется как проявление приспособительной эволюции. Так как нейроны ганглиев связаны с мышечной, соединительной тканями, железами и другими тканевыми структурами возможно, что они имеют морфофункциональные особенности. Нейроны, по-видимому, испытывают также и влияние специфических биохимических условий среды, в которой они находятся [4].

Таким образом, нейрогистологическими импрегнационными методами обнаружен полиморфизм интрамуральных нервных узлов и эфферентных нейронов желчевыделительной системы собаки. Относительно крупные нервные узлы расположены в области шейки желчного пузыря и в стенке общего желчного протока. Интрамуральный нервный аппарат желчевыделительной системы содержит большое число эфферентных нейроцитов с телами разной формы. Впервые в результате сочетания

экспериментального и импрегнационного методов установлена связь эфферентных нейронов желчного пузыря и желчных путей с блуждающим нервом.

Литература:

1. Колосов Н.Г. Нервная система пищеварительного тракта позвоночных и человека. 1968; 170 с.
2. Ризаев Ж. А., Азимов А. М., Храмова Н. В. Догоспитальные факторы, влияющие на тяжесть течения одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваний и их исход // Журнал "Медицина и инновации". – 2021. – №. 1. – С. 28-31.
3. Толкунов Ю.А., Ноздрачев А.Д. Первичные афферентные и двигательные нейроны тонкой кишки морской свинки. Вестник Санкт-Петербургского университета. 2007;1: С.71-6.
4. Хохлова С.Н., Богданова М.А., Шишова А.Д. и др. Возрастная морфология периферических нейронов (обзор). Известия Оренбургского государственного университета. 2019;4:С.181-4.
5. Balemba O.B., Salter M.J., Mawe G.M. Innervation of the extrahepatic biliary tract. The anatomical record. Part A. 2004; 280A: P. 836-47.
6. Brehmer A. Classification of human enteric neurons // Histochem Cell Biol. 2021; 156(2):95-108.
7. Cai W., Gu J., Huang W. et al. Peptide immunoreactive nerves and cells of the guinea pig gall bladder and biliary pathways. Gut. 1983;24: P. 1186-93.
8. D'Antongiovanni V., Pellegrini C., Fornai M. et al. Intestinal epithelial barrier and neuromuscular compartment in health and disease. World. J. Gastroenterol. 2020; 26: P.1564-79.
9. Furness J.B. The Enteric Nervous system and neurogastroenterology. Nat. Rev. Gastroenterol .Hepatol. 2012; 9(5): P.286-94.
10. Furness J.B., Callaghan B.P., Rivera L.R. et al. The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: integrated local and central control. Adv. Exp. Med. Biol. 2014; 817: P.39-71.
11. Higashiyama H., Uemura M., Igarashi H., Kurohmaru M. et al. Anatomy and development of the extrahepatic biliary system in mouse and rat: a perspective on the evolutionary loss of the gallbladder. J Anat. 2018; 232 (1). P. 134–45.
12. Mawe G.M., Talmage E.K., Cornbrooks E.B. et al. Innervation of the gallbladder: structure, neurochemical coding, and physiological properties of guinea pig gallbladder ganglia. Microsc. Res. Tech. 1997; 9 (1): P.1-13.
13. Natale G., Ryskalin L., Busceti C.L. et al. The nature of catecholamine-containing neurons in the enteric nervous system in relationship with organogenesis, normal human anatomy and neurodegeneration. Arch. Ital. Biol. 2017;155 (3): P.118-30.

14. Ren K., Dai Y., Yi K. et al. Using a Whole-mount immunohistochemical method to study the innervation of the biliary tract in *Suncus murinus*. J. Vis. Exp. 2017;124: P.5483.

15. Uesaka T., Young H.M., Pachnis V. et al. Development of the intrinsic and extrinsic innervation of the gut. Dev. Biol. 2016; 417(2): P.158-67.

16. Yi S.-Q., Ren K., Kinoshita M. et al. Innervation of extrahepatic biliary tract, with special reference to the direct bidirectional neural connections of the gall bladder, sphincter of Oddi and duodenum in *Suncus murinus*, in whole-mount immunohistochemical study. Anat. Histol. Embryol. 2016; 45: P.184-8.

ПОЛИМОРФИЗМ ИНТРАМУРАЛЬНЫХ ГАНГЛИИ И ЭФФЕРЕНТНЫХ НЕЙРОНОВ РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ ЖЕЛЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Дехканов Т.Д., Блинова С.А., Орипов Ф.С., Дехканова Н.Т., Рахмонова Х.Н.

Резюме. Ганглии желчного пузыря являются участками сложных модуляторных взаимодействий, которые в конечном итоге влияют на функции мышечных и эпителиальных клеток в органе. Цель исследования – выявление особенностей морфологии интрамуральных ганглиев и эфферентных нейронов желчного пузыря, внепеченочных желчных путей. Нейрогистологическими методами (импрегнация азотнокислым серебром по методу Бильшовского-Грос и по Кампосу) и морфометрически изучен интрамуральный нервный аппарат стенки желчного пузыря, общего желчного протока и печеночных протоков у 12 собак, из них 6 животных подвергали правосторонней шейной ваготомии. Наиболее крупные нервные ганглии располагаются в стенке желчного пузыря (особенно в области шейки пузыря) и общего желчного протока. В стенке печеночных протоков находятся небольшие микроганглии, а также одиночные нейроны. В интрамуральном нервном аппарате желчного пузыря и внепеченочных желчных протоков форма тел эфферентных нейронов отличается выраженным полиморфизмом. Наименьшая плотность расположения эфферентных нейронов отмечается в области дна и тела желчного пузыря. Достоверно больше, по сравнению с телом и дном, их находится в области шейки желчного пузыря. Наибольшая плотность нейронов отмечается в общем желчном протоке. Обнаруженные нами после ваготомии гиперимпрегнированные и гипертрофированные синаптические окончания на длинноаксонных нейронах подтверждают их принадлежность к эфферентным парасимпатическим нейронам. Наличие гигантских и двухъядерных эфферентных нейронов, транзитных контактов на их поверхности, а также образование дендритических ламелл, морфологически отражают высокую функциональную активность эфферентных нейронов.

Ключевые слова: желчевыделительная система, желчный пузырь, внепеченочные желчные пути, интрамуральные ганглии, эфферентные нейроны.