

М. А. Сырцова, Е. Г. Сухорукова и Д. Э. Коржевский

НЕЙРОЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ ТЕЛЬЦА ЛЕГКОГО У КРЫСЫ

Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы (зав. — д-р мед. наук Д. Э. Коржевский), отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Статья посвящена исследованию нейроэпителиальных телец (НЭТ) в легких у здоровых половозрелых крыс линии Вистар (n=12). С помощью иммуноцитохимической реакции на синаптофизин были выявлены НЭТ и подходящие к ним иммунопозитивные нервные терминалы. Установлено, что НЭТ в легком у крысы являются постоянно присутствующими элементами. В отличие от диффузных нейроэндокринных элементов, для них характерно групповое расположение клеток. Обнаружено, что у части НЭТ эфферентная иннервация отсутствует.

Ключевые слова: нейроэпителиальные тельца, нейроэндокринные клетки, синаптофизин, легкие

Нейроэпителиальные тельца (НЭТ) — особые рецепторные структуры в эпителии бронхов, которые были открыты в конце 30-х годов XX в. [11]. Несмотря на длительную историю исследования, функции НЭТ остаются не вполне понятными. Предполагают, что главная из них — анализ газового состава воздуха и участие в физиологическом изменении функции легких в ответ на изменение качественного состава вдыхаемого воздуха [1, 9]. До настоящего времени сохраняется неопределенность и в вопросах структурной организации НЭТ, а также в классификации нейроэндокринных элементов легкого. Несмотря на предполагаемую существенную роль НЭТ в системе нормальной регуляции функции легких, их изучению посвящено крайне мало исследований, что, по-видимому, объясняется невозможностью их идентификации при использовании обзорных и специальных методов окраски препаратов, применяемых для изучения строения легких в норме и патологии.

Цель данной работы — выявление НЭТ в легком у крысы и определение их клеточной организации.

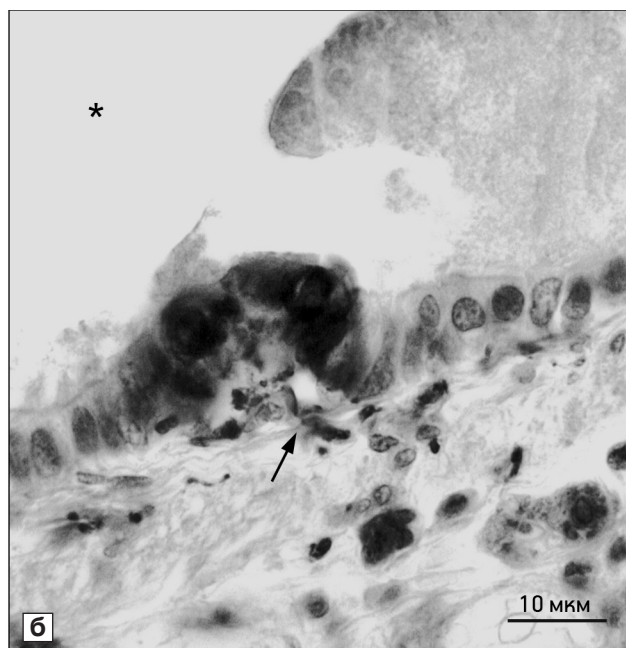
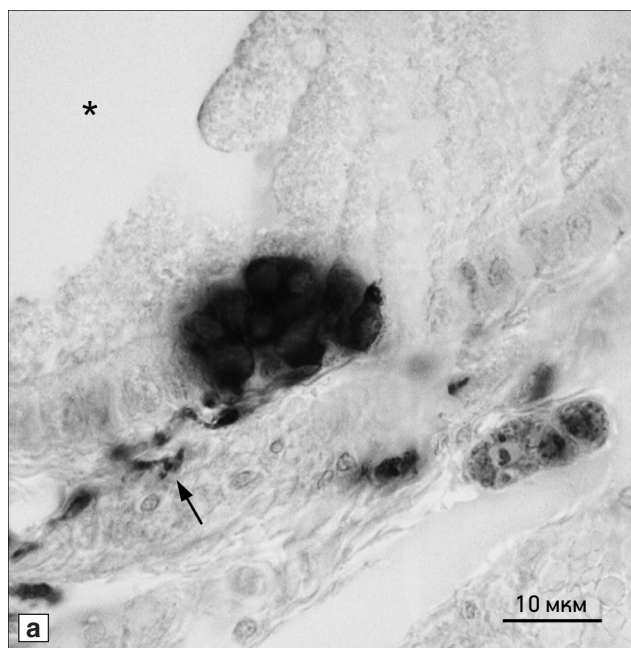
Материал и методы. Исследование проведено на 12 половозрелых крысах-самцах линии Вистар. Содержание животных и все экспериментальные манипуляции осуществляли с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Морфологическому исследованию подвергали легкие интактных крыс. Материал фиксировали

в цинк-этанол-формальдегиде [4], обезживали и заливали в парафин обычным способом. НЭТ выявляли при помощи реакции на синаптофизин [2]. Срезы депарафинировали, перед постановкой иммуноцитохимической реакции проводили тепловое демаскирование антигена. Для блокирования эндогенной пероксидазы использовали 3% водный раствор перекиси водорода (10 мин). Блокирование неспецифически связанных антител проводили в блокирующем растворе Protein Block (Springbio, США) в течение 10 мин. Для выявления НЭТ использовали мышинные моноклональные антитела (SY38) к синаптофизину (разведение 1:30, Dako, Дания) и вторичные антитела, конъюгированные с полимером и пероксидазой (EnVision + System Labelled Polymer-HRP Anti-Mouse, Dako, Дания). Визуализацию продукта иммуноцитохимической реакции проводили с использованием 3,3'-диаминобензидин-тетрагидрохлорида (DAB+, Dako, Дания). Часть срезов после постановки реакции докрашивали либо альциановым синим, либо гематоксилином. Препараты обезживали в этаноле и изопропаноле, просветляли в ксилоле и заключали в Cytoseal 60 (Thermo scientific, США) [3]. Определяли долю НЭТ, содержащих различное количество клеток.

Результаты исследования. При проведении реакции на синаптофизин НЭТ были обнаружены у всех исследуемых животных. На полученных препаратах НЭТ выглядели как группы клеток, интенсивно окрашенные хромогеном в коричневый цвет (*рисунк*), реже они были представлены единичными клетками, расположенными в составе однослойного кубического эпителия мелких бронхов и респираторных бронхиол. Клетки в составе НЭТ имели овальную форму с отчетливо различимым ядром, в области кото-

Сведения об авторах:

Сырцова Марина Александровна (e-mail: marina.syczova@mail.ru.), Сухорукова Елена Геннадьевна (e-mail: len48@inbox.ru), Коржевский Дмитрий Эдуардович (e-mail: dek2@yandex.ru), лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы, отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12



Нейроэпителиальное тельце в эпителии малого бронха крысы.

Звездочка — просвет бронха; стрелка — синаптофизин-иммунопозитивные терминалии. Иммуноцитохимическая реакция на синаптофизин без докрасивания (а) и соседний срез — с докрасиванием гематоксилином (б)

рого продукт иммуноцитохимической реакции отсутствовал. НЭТ встречались от 2 до 6 на срезе легкого, захватывающего все его доли.

Рядом с большинством НЭТ располагались синаптофизин-иммунопозитивные терминалии (СФИТ). Встречались также НЭТ, не имеющие подходящих к ним СФИТ. Были обнаружены и единичные синаптофизин-иммунопозитивные клетки, находившиеся в составе однослойного эпителия малых бронхов. В ряде случаев встречались единичные клетки в составе эпителиального пласта, которые в отличие от клеток НЭТ были смещены к его базальной части. Количество клеток в обнаруженных НЭТ варьировало. Большее число НЭТ (45%) состояло из 5–10 клеток; 40% содержали 10–20 клеток; 8% — 2–5 и 7% — имели единичные синаптофизин-иммунопозитивные клетки. Помимо НЭТ, были обнаружены СФИТ, которые преимущественно локализовались в мышечной оболочке бронхов и по ходу кровеносных сосудов.

Обсуждение полученных данных. В результате проведенного исследования установлено, что НЭТ содержатся в однослойном кубическом реснитчатом эпителии бронхиол. В отличие от других клеток, их клетки немного выступают над поверхностью эпителия, и обычно их ядра не смещены к базальной части эпителиального пласта. Единичные синаптофизин-иммунопозитивные клетки были смещены к базальной части эпителиального пласта и, по-видимому, являются не рецепторными структурами, а элементами диф-

фузной нейроэндокринной системы легких, которые регистрируются и другими методами [8]. В нашем исследовании использовалось иммуноцитохимическое выявление синаптофизина с помощью специфических моноклональных антител [2]. Синаптофизин является главным интегральным белком мембран синаптических пузырьков нейронов нервной системы [12], таким образом, он участвует в регуляции и осуществлении синаптической передачи. Поэтому его присутствие в клетках свидетельствует о их принадлежности к нервным или нейроэндокринным элементам. Это объясняет причину того, почему в полученных препаратах одновременно окрашивались НЭТ, отдельные нейроэндокринные клетки и СФИТ. По данным литературы, афферентную иннервацию НЭТ осуществляют 3 типа терминалей. Первый тип — это нервные волокна блуждающего нерва, берущие начало в узловатом ганглии; второй — афферентные волокна спинального происхождения которых формируют сплетение под НЭТ, не проникая между эпителиальными клетками; третий — нитроергические волокна [5, 9]. Реакция на синаптофизин не является селективной по отношению к отдельным медиаторам и выявляет все терминалии, что способствует ее широкому использованию при исследовании эфферентной иннервации различных органов [6, 7].

Таким образом, НЭТ в легком у крысы являются постоянно присутствующими элементами. В отличие от диффузных нейроэндокринных элементов, для них характерно групповое располо-

жение клеток. Взаимодействие НЭТ и СФИТ не является постоянной комбинацией, что свидетельствует об отсутствии эфферентной иннервации у части телец.

ЛИТЕРАТУРА

1. Евсюкова Е.В. Нейроэндокринная система легких человека. Физиология человека, 2006, т. 32, вып. 4, с. 121–130.
2. Кирик О.В., Ворончихин П.А., Чумасов Е.И. и Коржевский Д.Э. Применение реакции на синаптофизин для выявления нейроэпителиальных телец лёгкого крысы. В кн.: Бабушкинские чтения в Орле. М., Изд-во ЗАО «Ретиноиды», 2011, вып. 32, с. 70–71.
3. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Карпенко М.Н. и др. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии. СПб., СпецЛит, 2012.
4. Коржевский Д.Э., Сухорукова Е.Г., Гилерович Е.Г. и др. Преимущества и недостатки цинк-этанол-формальдегида как фиксатора для иммуноцитохимических исследований и конфокальной лазерной микроскопии. Морфология, 2013, т. 144, вып. 2, с. 81–85.
5. Филиппова Л.В. и Ноздрачев А.Д. Сенсорные структуры легких и воздухоносных путей. Бюл. сибирской медицины, 2011, т. 10, вып. 3, с. 100–104.
6. Чумасов Е.И., Петрова Е.С. и Коржевский Д.Э. Иммуноморфологический анализ иннервации хромаффинных паранервных артерий и сердца млекопитающих. Журн. эволюц. биохим., 2011, № 4, с. 325–331.
7. Чумасов Е.И., Петрова Е.С. и Коржевский Д.Э. Распределение и структурная организация нервных аппаратов в поджелудочной железе крысы. Морфология, 2011, т. 139, вып. 3, с. 51–58.
8. Brouns I., Oztay F., Pintelon I. et al. Neurochemical pattern of the complex innervation of neuroepithelial bodies in mouse lungs. Histochem. Cell Biol., 2008, v. 132, № 2, p. 34–42.
9. Brouns I., Van Genechten J., Scheuermann D.W. et al. Neuroepithelial bodies: a morphologic substrate for the link between neuronal nitric oxide and sensitivity to airway hypoxia? J. Comp. Neurol., 2002, v. 449, p. 343–354.
10. Cutz E., Pan J., Yeger H. et al. Recent advances and controversies on the role of pulmonary neuroepithelial bodies as airway. Semin. Cell Dev. Biol., 2012, v. 24, p. 40–50.
11. Feyrter F. Über diffuse endokrine epitheliale Organe. Zbl. Inn. Med., 1938, Bd. 545, S. 31–32.
12. Hannah M.J., Schmidt A.F. and Huttner W.B. Synaptic vesicle biogenesis. Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 1999, v. 15, p. 733–798.

Поступила в редакцию 23.09.2013

PULMONARY NEUROEPITHELIAL BODIES IN THE RAT

M.A.Syrtsova, Ye.G.Sukhorukova and D.E.Korzhevskiy

This paper describes the study of the neuroepithelial bodies (NEB) in the lungs of adult healthy Wistar rats (n=12). Using the immunocytochemical reaction demonstrating synaptophysin, NEB and immunopositive nerve terminals approaching them, were visualized. It was found that NEB were the structures constantly presented in the rat lung. In contrast to the diffuse neuroendocrine elements, NEB are characterized by grouped distribution of cells. It was found that some part of NEB had no efferent innervation.

Key words: *neuroepithelial cells, neuroendocrine cells, synaptophysin, lungs*

Laboratory of the Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special Morphology, RAMS North-Western Branch Institute of Experimental Medicine, St.Petersburg