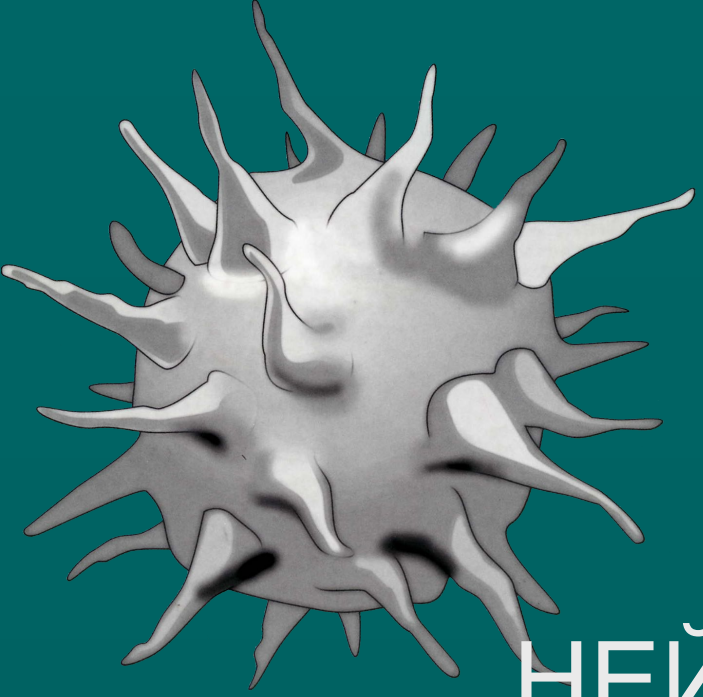
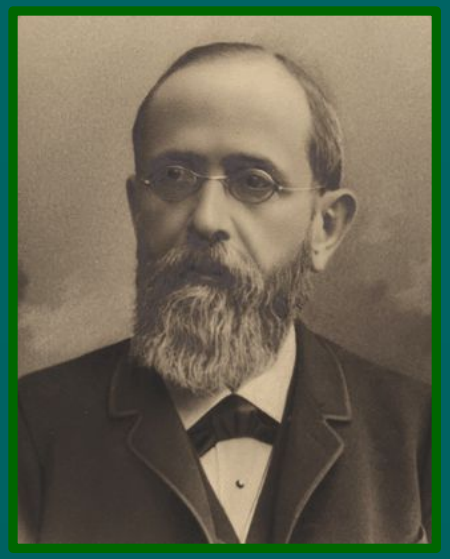


ДИФФУЗНАЯ НЕЙРОЭНДОКРИННАЯ СИСТЕМА

ЭНТЕРОЭНДОКРИННЫЕ КЛЕТКИ

- ***В 1870 году*** немецкий физиолог ***Рудольф Гейденгайн*** впервые описал в слизистой оболочке желудка особые, диффузно расположенные клетоки, которые окрашивались солями хрома, и дал им название «хромаффинные клетки»
- Впоследствии многие исследователи, обнаруживая «хромаффинные клетки» называли их - энтерохромаффинными клетками Кульчитского, клетками Нуссбаума, Николаса, светлыми, желтыми, базальнозернистыми



В 1914 году П. Массон (французский патологоанатом) показал, что хромаффинные клетки окрашиваются также и нитратом серебра, и предположил их эндокринную природу

- ***В 1938 году Ф.Фейртер***, использовал гистологические методы Массона, исследовал различные органы, и обнаружил аргетаффинные и аргирофильные клетки, диффузно расположенные в панкреатических протоках, слизистой оболочке пищеварительного тракта, слизистой оболочке дыхательных и мочеполовых путей. Он ввел понятия «диффузная нейроэндокринная система» и «нейроэндокринные клетки»

1. Энтерохромафинные (аргентафинные) – окрашиваются бихроматом калия и азотнокислым серебром (ЕС- клетки)

2. Аргирофильные – восстанавливают нитрат серебра в присутствии восстановителя (общая популяция)

A.E. Pears (1966-1969)

Александр Эверсон Пирс

APUD – серия

APUD – Amine Precuser Uptake and Decarboxylation

Клетки способны поглощать предшественники биогенных моноаминов

(5-гидрокситриптофан,

L-дигидрооксифенилаланин)

Происхождение апудоцитов

Первоначально Пирс предполагал, что единым эмбриональным предшественником клеток АПУД-системы является *нейроэктодерма*. По другим источникам – так называемый *нейроэндокринно-программированный эпибласт*.

Согласно современным представлениям, клетки APUD-серии развиваются *из всех зародышевых листков* и присутствуют во всех тканях:

- производные нейроэктодермы - нейроэндокринные клетки гипоталамуса, эпифиза, мозгового вещества надпочечников, пептидэргические нейроны центральной и периферической нервной системы;
- производные кожной эктодермы - это клетки APUD-серии аденогипофиза, клетки Меркеля в эпидермисе кожи;
- производные кишечной энтодермы - это многочисленные клетки гастроэнтеропанкреатической системы;
- производные мезодермы - секреторные кардиомиоциты;
- производные мезенхимы - например, тучные клетки соединительной ткани.

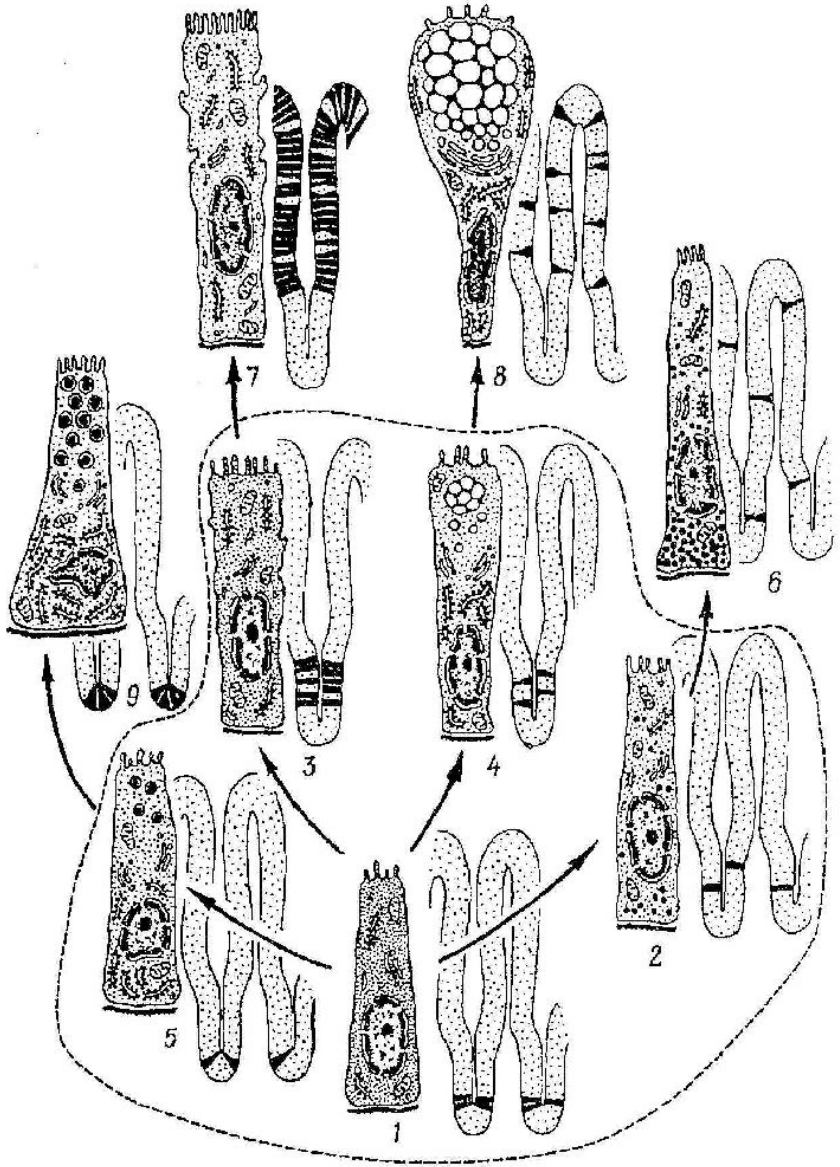
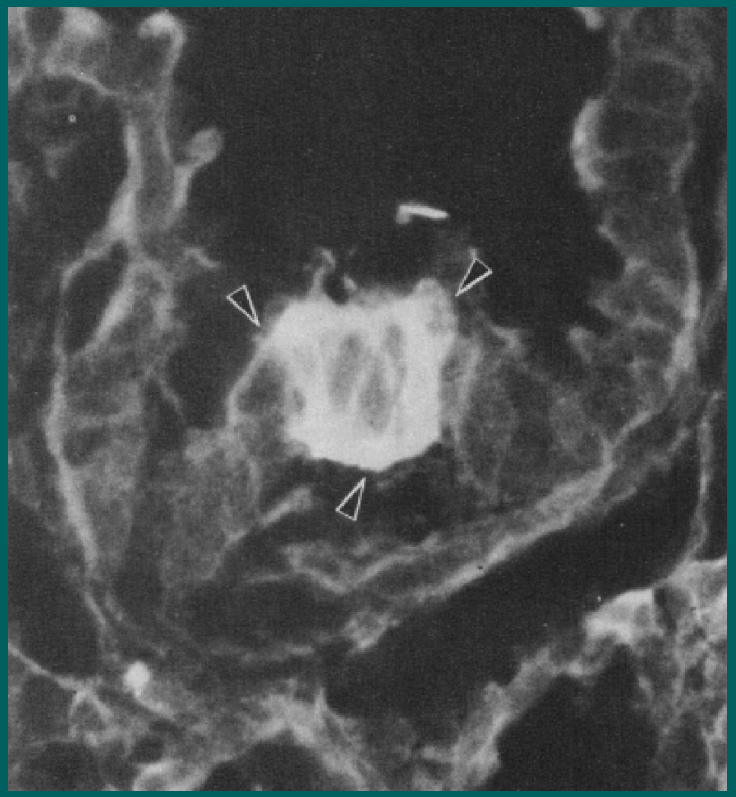


Рис. 5. Организация процессов репродукции и дифференцировки клеток в кишечном эпителии млекопитающих:

1 — стволовая мультипотентная клета, *2–5* — полустволовые и *6–9* — дифференцированные клетки (*2* и *6* — энтерохромаффинные, *3* и *7* — всасывающие, *4* и *8* — бокаловидные, *5* и *9* — панетовские); пунктирными линиями обведены клетки, находящиеся в митотическом цикле; стрелками показано направление клеточных дифференцировок; локализация и количество каждого типа клеток представлены в виде черных клеток на каждой схеме крипты ворсинки (*1–9*).



- Метод флуоресценции основан на способности моноаминов конденсироваться с парами формальдегида при воздействии глиоксиловой кислоты с образованием флуорофоров
- Этим методом выявляются ЕС-клетки ЖКТ

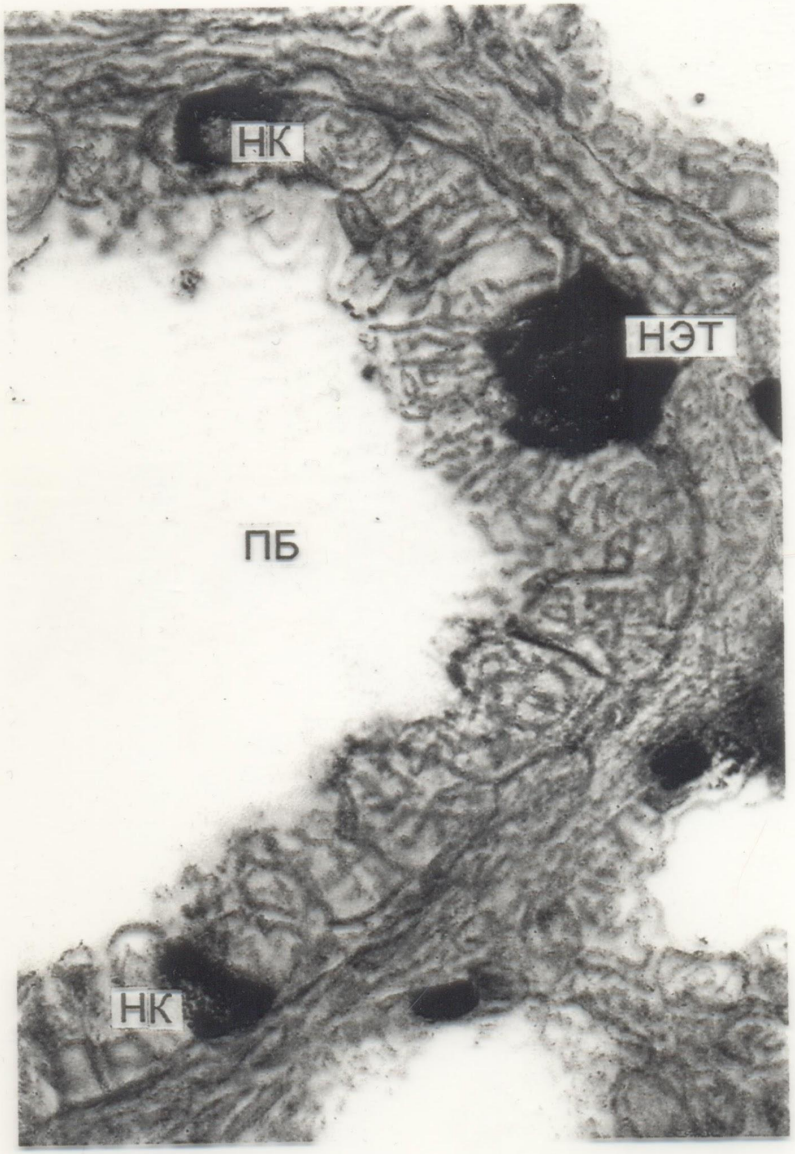
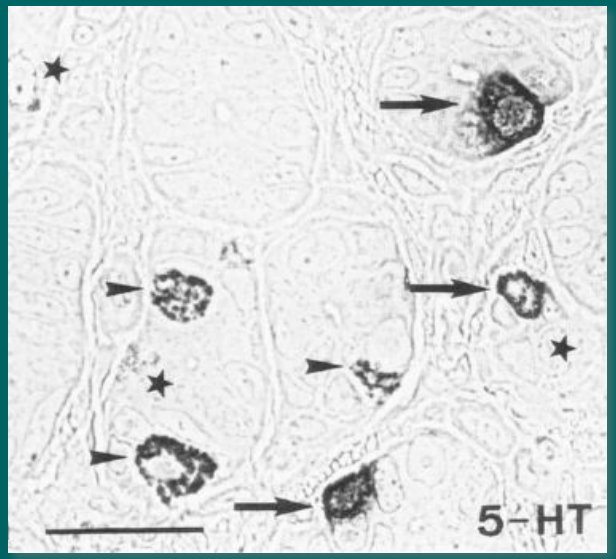


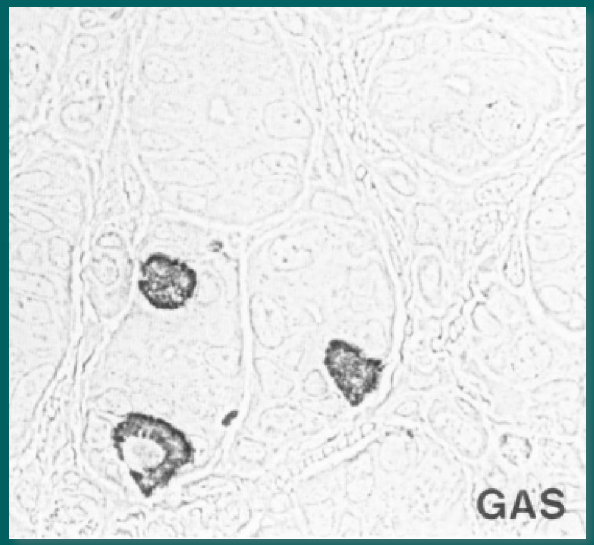
Рис. 11.5. Нейроэндокринные клетки (НЭК) и нейроэпителиальные тельца (НЭТ) в бронхе легких 26-дневного плода кролика. Импрегнация по Гримелиусу. Ув. 1000.

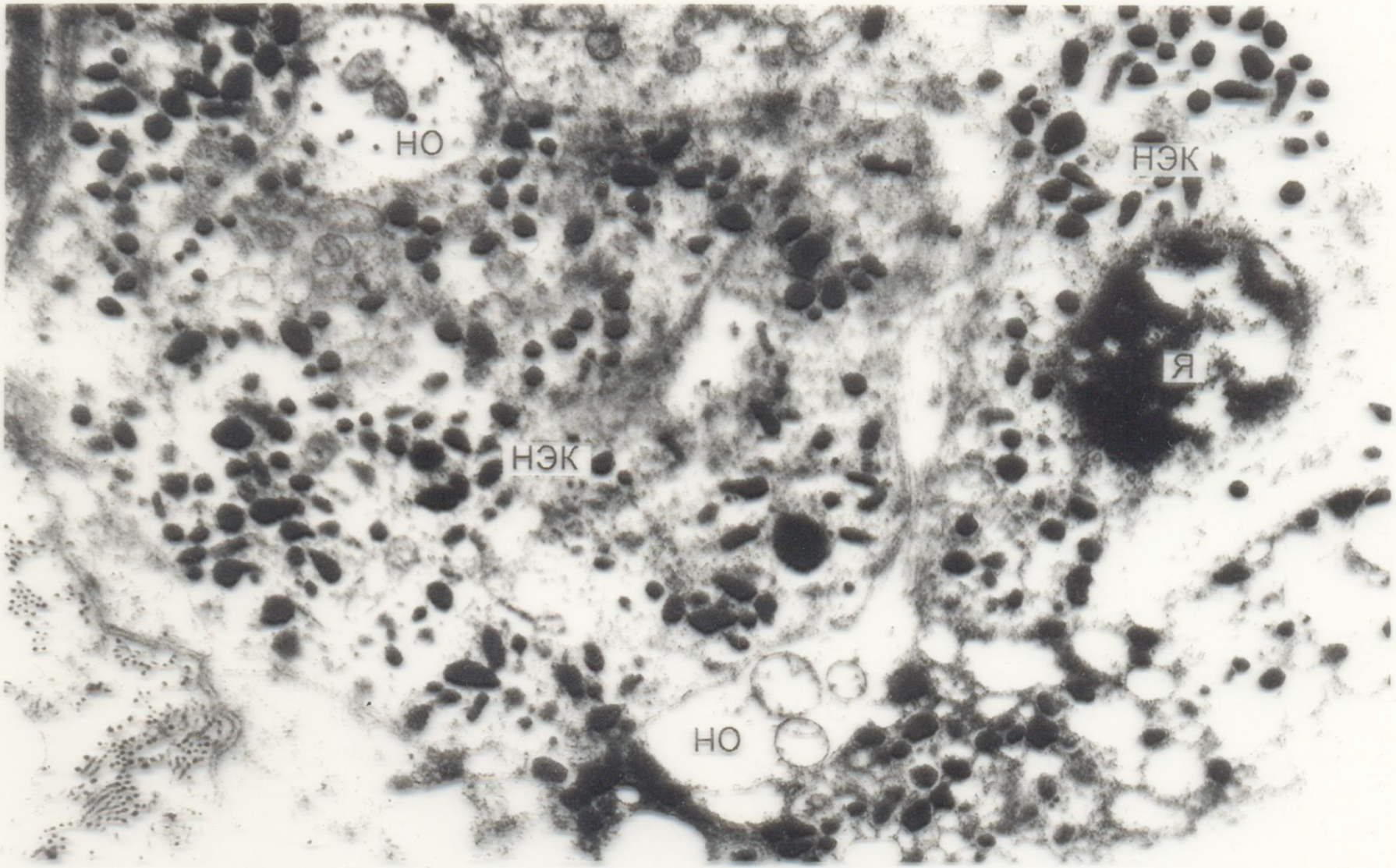
ПБ — просвет бронха.

- ***Иммуногистохимические методы.***
  Отличаются высокой специфичностью. Получено значительное количество моноклональных антител к активным пептидам, биогенным аминам и ферментам, таким как нейроспецифическая энолаза, L-ДОФА декарбоксилаза

- Популярен метод окрашивания серийных срезов различными антителами. Это позволило обнаружить в одной клетке различные гормоны



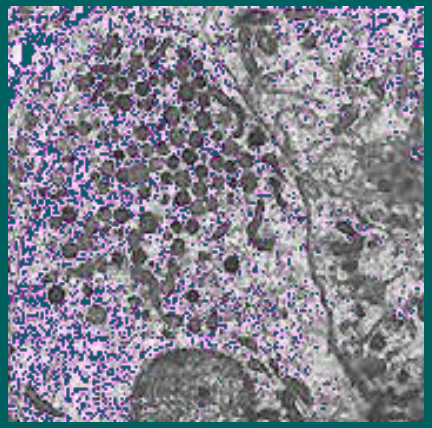


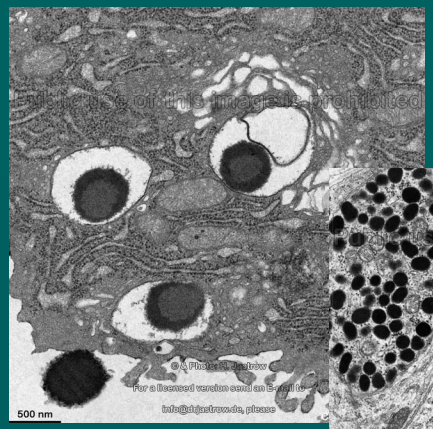

НО
НЭК
Я
НЭК
НО

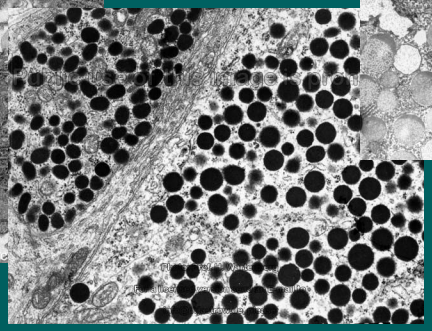
- ***Электронная микроскопия***

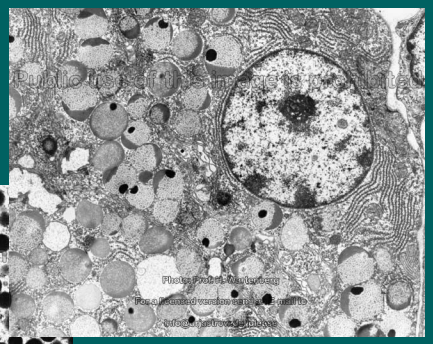
- Основной отличительный признак апудоцитов – секреторные гранулы в цитоплазме

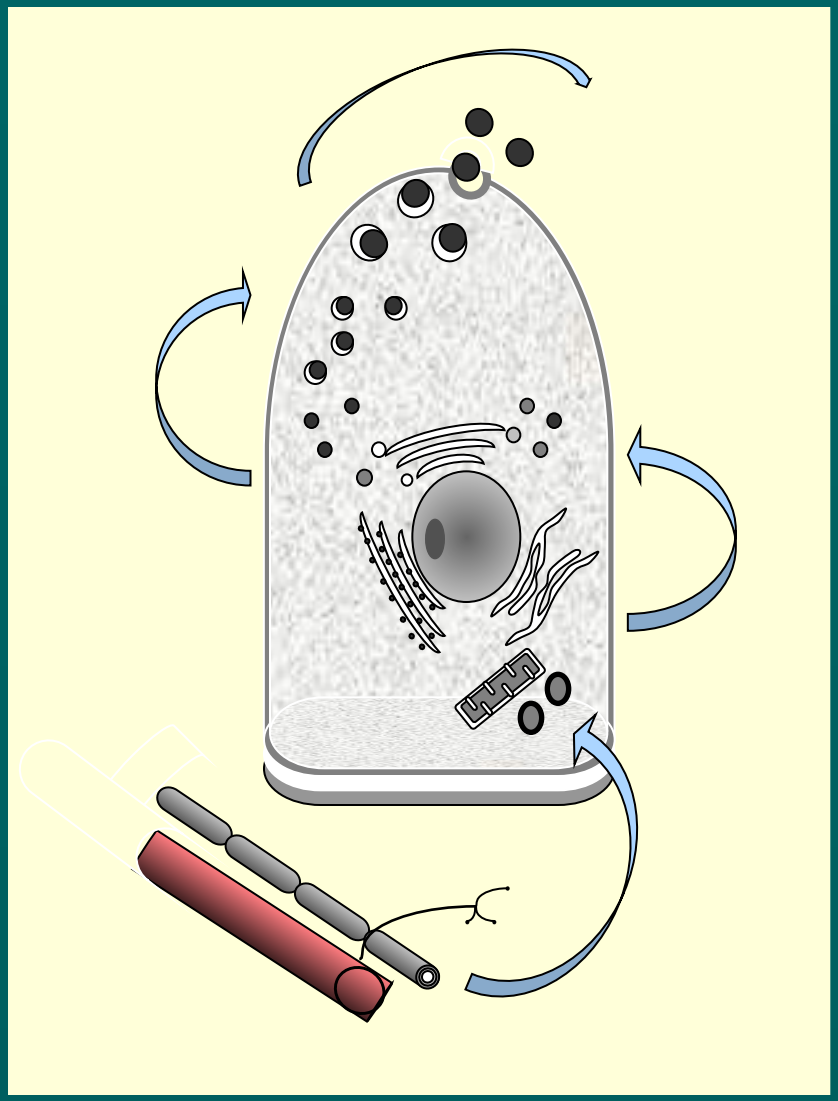
- Достоверно отличить эндокринные гранулы от эндокринно-подобных позволяет метод уранаффинной реакции. При его использовании избирательно контрастируются гранулы эндокринных клеток, ядерный хроматин, ядрышки и рибосомы, а лизосомы, липофусциновые, лактальбуминовые и зимогенные гранулы не окрашиваются











Принципиальная схема секреторного цикла, как известно, универсальна и состоит из 4-х следующих друг за другом фаз:

1 - поступление в клетку исходных продуктов для биосинтеза гормонов. Эти продукты ЭК получает из межклеточного вещества собственной пластинки, куда они доставляются через капилляры, нервные волокна;

2 - синтез прогормонов. В цитоплазме из поступивших продуктов при участии эндоплазматического ретикулума и энергетической поддержке митохондрий происходит синтез прогормонов;

3 - формирование в комплексе Гольджи секреторных гранул и их накопление в цитоплазме;

4 - высвобождение гормона из клетки при поступлении адекватных стимулов (нервных или гуморальных).

- Нервная, эндокринная и иммунная система – объединены
- Новая область биологии и медицины – нейроиммуноэндокринология
- Клетки этой системы - НЭК присутствуют в каждом органе, единая диффузная нейроиммуноэндокринная система

НЕЙРОИММУНОЭНДОКРИННАЯ СИСТЕМА

Желудочно-кишечный тракт
Поджелудочная железа
Мочеполовая система
Воздухопроводящая система
Шишковидная железа
Щитовидная железа
Надпочечники
Аденогипофиз
Паротидные тельца
Симпатические ганглии
Тимус
Плацента
Органы репродуктивной системы и др.

- В настоящее время известны более 100 типов нейроэндокринных клеток

- Идентичность активных веществ, действующих внутри нервной системы как нейротрансмиттеры и нейрогормоны, а также как гормоны внутри эндокринной APUD-системы, позволили объединить обе эти системы (нервную и APUD) в единую регулирующую систему организма - диффузную нейроэндокринную систему (ДНЭС)

- ДНЭС включает в себя диффузно рассеянные эндокринные клетки, а также аминергические и пептидергические нейроны

- Клетки ДНЭС имеют несколько сходных признаков: присутствие в цитоплазме одинаковых секреторных гранул, общих регуляторных пептидов и нейронспецифической энолазы (фермента, участвующего в декарбоксилировании аминов)

ДНЭС
(нейроэндокринные клетки)

APUD (ДЭС)

Аминергические и
Пептидэргические нейроны

Сходные признаки:
- одинаковые секреторные гранулы
- общие регуляторные пептиды
- нейроспецифическая энолаза
- L-DOPA-декарбоксилаза

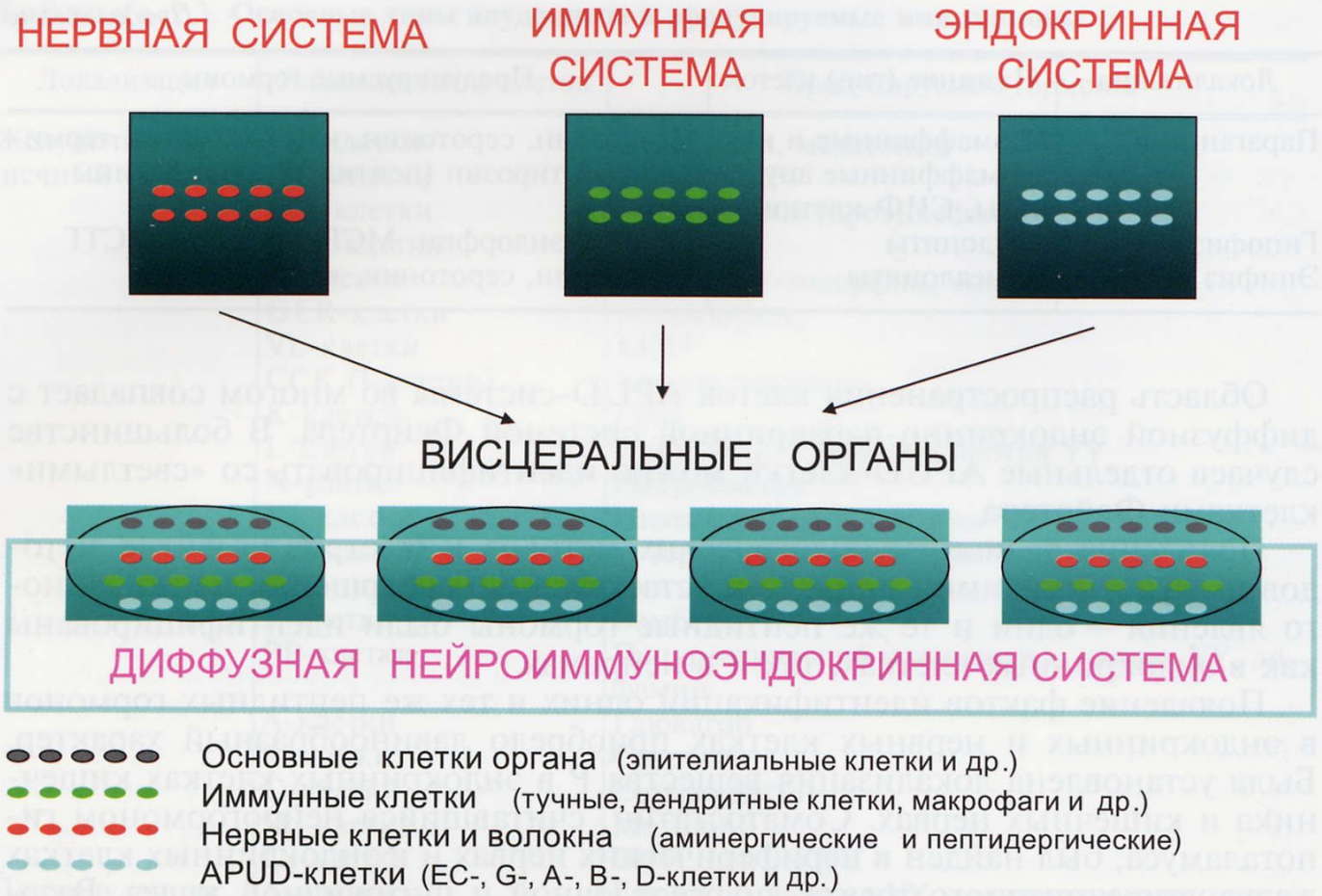


Рис. 2.5. Структурно-функциональные основы нейроиммуноэндокринных взаимодействий.

R. Guillemin (1977)

- Нобелевская премия

Лекция: «Пептиды в мозге - новая эндокринология нейрона»

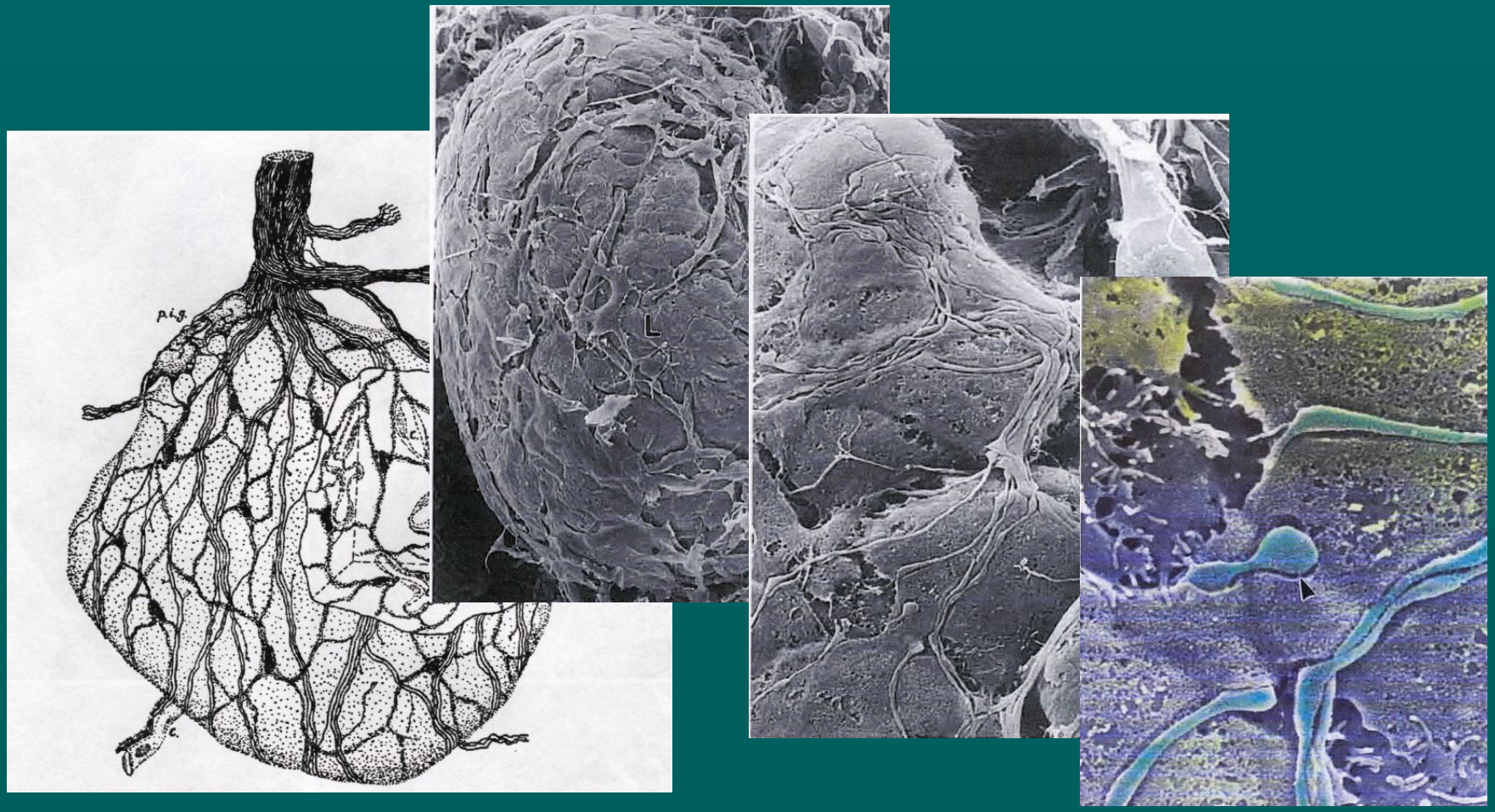
- Появление радиоиммунологии и развитие иммуногистохимии привели к открытию совершенно неожиданного феномена: биогенные амины и пептидные гормоны, характерные для апудоцитов были обнаружены и в некоторых нейронах. (Polak, Bloom, 1986)

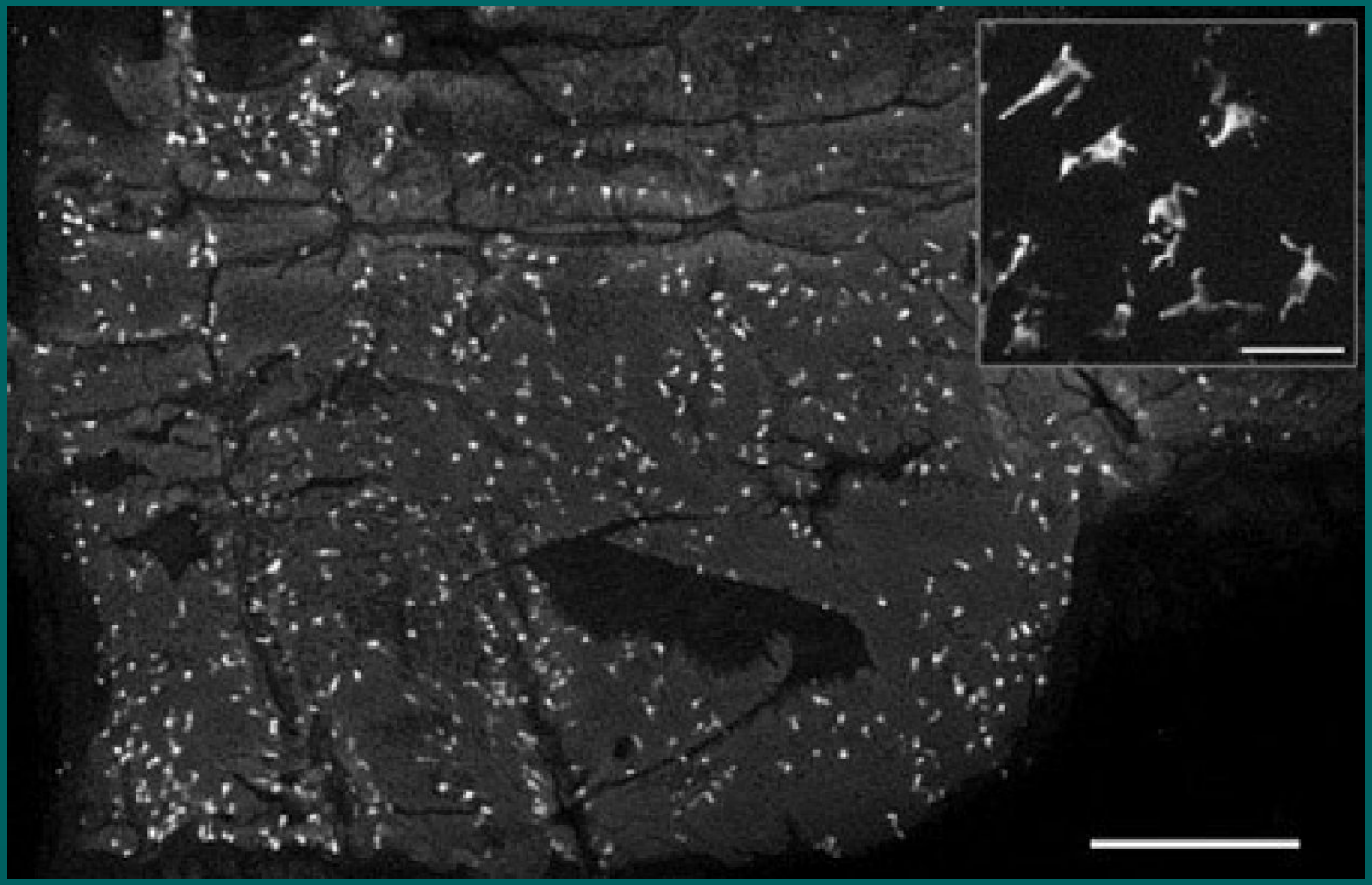
- Эти нейроны, содержащие гормонально-активные полипептиды, отнесли к метасимпатической нервной системе

- Особенностью этой системы является ее значительная автономия по сравнению с симпатической и парасимпатической системами

- Среди пептидергических нейронов известны чувствительные и моторные. Их основная функция – модулировать возбуждающие импульсы

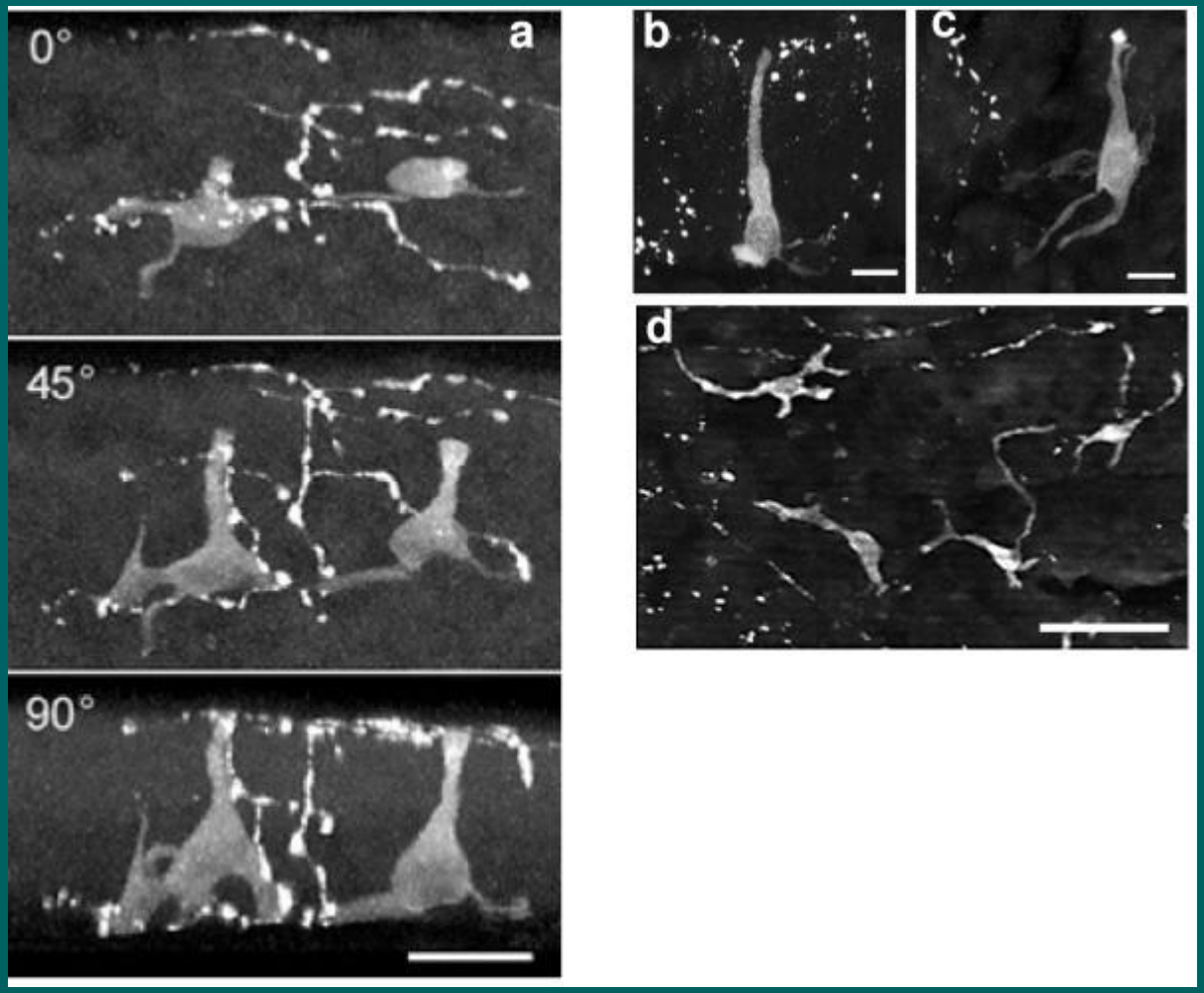
Пептидэргическая нервная система ярко представлена в эндокринном островке поджелудочной железы. Пептидергические нейроны и их отростки образуют плотную сеть, пронизывающую и оплетающую островок





(Weichselbaum M. et al., 2005)

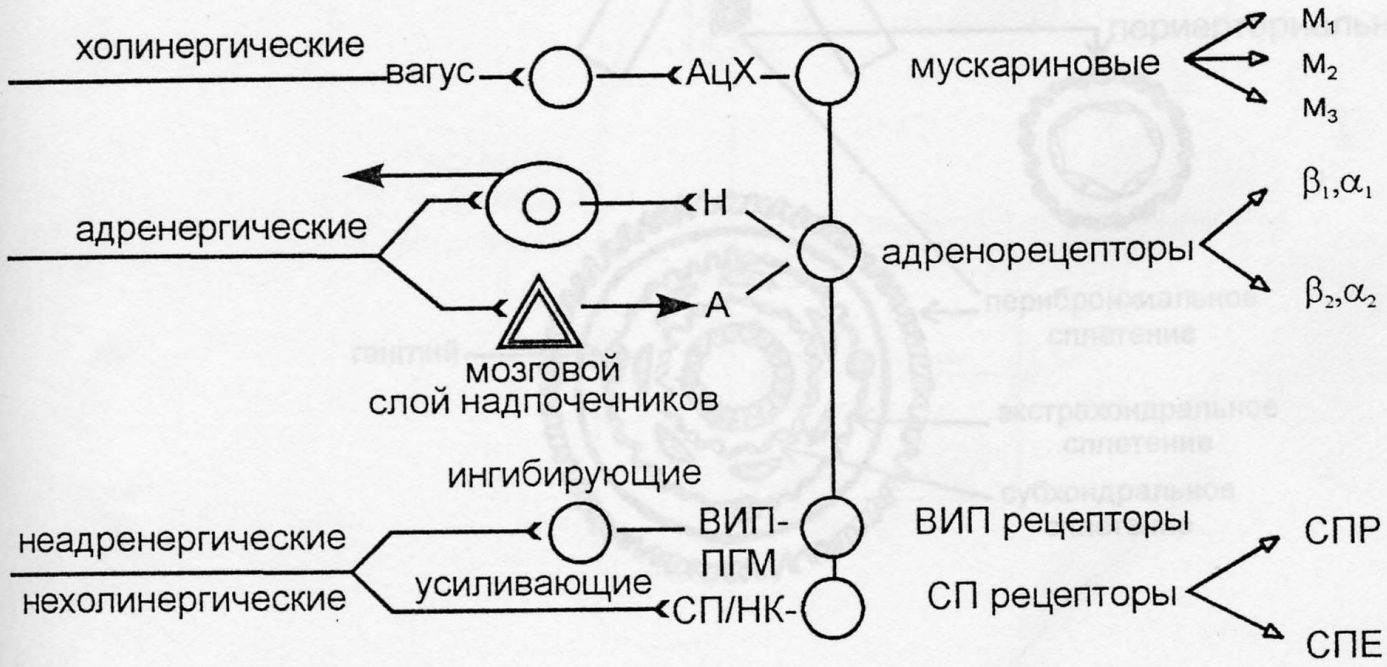
Слизистая оболочка бронха. ИГХ-реакция с АТ к гастрин-рилизинг-пептиду. Конфокальная микроскопия.



(Weichselbaum M. et al., 2005)

Слизистая оболочка бронха. Видны 2 эндокринные клетки (метка - АТ к гастрин-рилизинг-пептиду) и нервные волокна (метка - протеин-ген-продукт - protein gene product, 9,5-PGP 9,5) 3Д. Конфокальная микроскопия.

Нейротрансмиттеры и рецепторы легких у человека



Условные обозначения:

АцХ - *ацетилхолин;* Н - *норадреналин;* А - *адреналин;* ВИП - *вазоинтестинальный пептид;* ПГМ - *пептид гистидин метионин;* НК - *нейрокинин;* СП - *субстанция Р;* СПР - *Субстанция Р - рецепторы;* СПЕ - *субстанция Р эледоизин - рецепторы*

Рис. 1. Схема нервного контроля легких по P.J. Barnes (1990 г.)

- АПУД-система желудочно-кишечного тракта и поджелудочной железы, выделена в отдельную гастроэнтеропанкреатическую эндокринную систему (ГЭПС) на долю которой приходится около половины всех апудоцитов

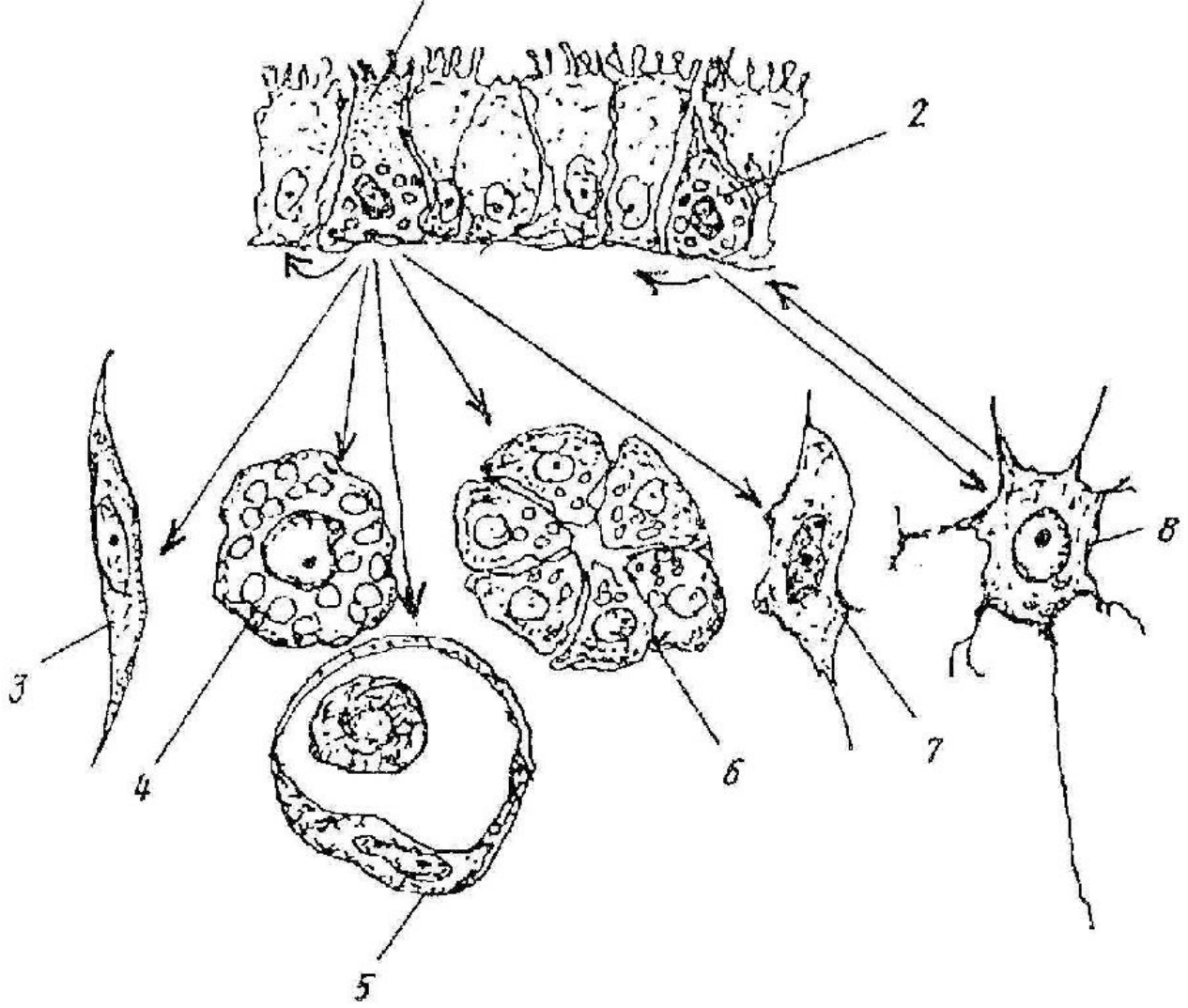


Рис. 41. Структурная организация и функциональные связи диффузной эндокринной системы (по В. В. Яглову, 1989).

1 — эндокринная клетка открытого типа, *2* — эндокринная клетка закрытого типа, *3* — гладкая мышечная клетка, *4* — тучная клетка, *5* — капилляр, *6* — концевой отдел железы, *7* — фибробласт, *8* — нервная клетка.

Типы энтериноцитов

Открытого

Апикальная часть клетки достигает поверхности

Секреция в просвет

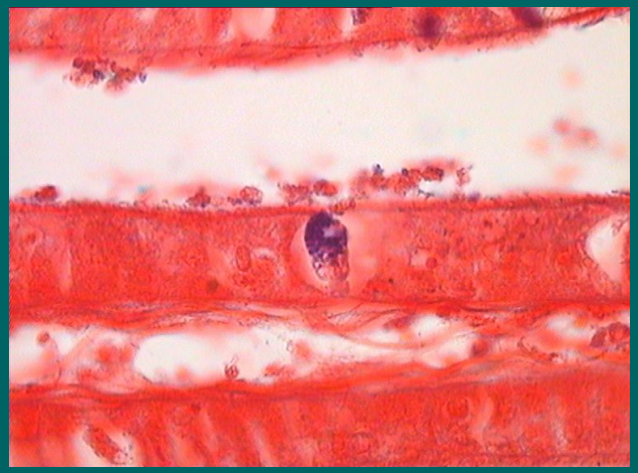
Закрытого

Не сообщаются с просветом

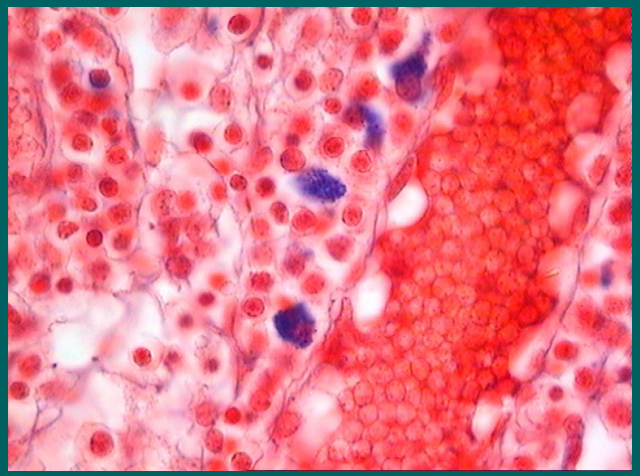
Давление, растяжение стенки, колебания температуры, секрет в кровь

р CO_2 и O_2

- Клетки ГЭПС могут быть *эндокринными клетками открытого типа* (их апикальные концы достигают просвета желудочно-кишечного тракта), и реагируют на пищевые раздражители и изменения pH изменением секреции.



- Клетки ГЭПС, являющиеся *эндокринными клетками закрытого типа*, не имеют выхода в просвет желудочно-кишечного тракта и реагируют на физические (растяжение органа, давление, температура) и химические факторы.



- Энтериноциты тесно связаны с пептидергической (метасимпатической) и нервной системой

- В настоящее время в желудочно-кишечном тракте обнаружено более 30 видов эндокринных клеток. Но многие из них способны одновременно вырабатывать различные пептиды и амины

Основные типы нейроэндокринных клеток желудочно-кишечного тракта

Тип апудоцитов	Основная локализация апудоцитов	Основные продуцируемые вещества
D	Желудок, **тонкая кишка,** поджелудочная железа	Соматостатин, (ВИП)
EC	Желудок, **тонкая и толстая кишка**	Субстанция Р, серотонин
ECL	Желудок	Серотонин, гистамин, дофамин (точно не установлен)
G	Желудок	Гастрин, энкефалины, эндорфины
I	**Тонкая кишка**	Холецистокинины
К	**Тонкая кишка**	Гастроингибирующий полипептид (ГИП)
Mo	**Тонкая кишка**	Мотилин, серотонин
N	**Тонкая кишка**	Нейротензин
P	Желудок, **тонкая кишка**	Гастрин-рилизинг-пептид
S	**Тонкая кишка**	Секретин
A	Поджелудочная железа	Глюкагон, энкефалины, эндорфины
B	Поджелудочная железа	Инсулин
$PP_{(F)}$	Поджелудочная железа	Панкреатический полипептид (ПП)

Функции ЭЭК (Kvetnoj, et al., 2001)

- Участие в механизмах нейроэндокринной регуляции
- Регуляция пролиферативных и апоптических процессов, дифференцировки клеток эпителия

- EC –клетки самая большая популяция (синтезирует 95% серотонина)

(EC1)- серотонин

(EC)- мелатонин, мотилин

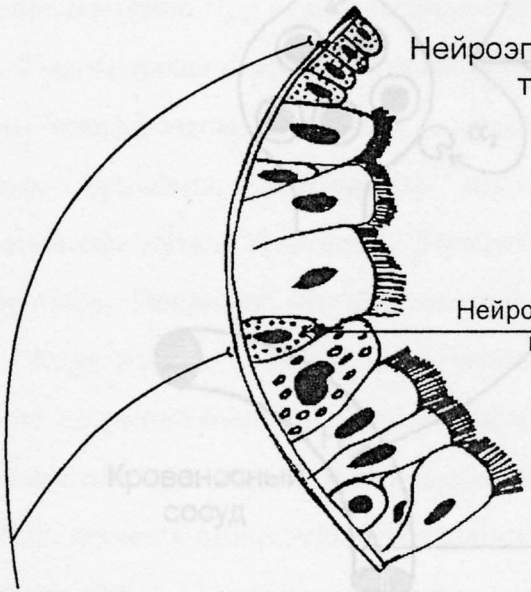
Вещество P (Watahabe et al., 1998)

В ж.к.т. Синтезируется в 400 раз больше мелатонина, чем в эпифизе (Lerner et al., 1958)

- D1 клетки – вазоинтестинальный пептид
- Во всех отделах ЖКТ, ЦНС (гипоталамус, фронтальная кора, симпатических ганглиях), т.е. типичный нейропептид
- Кишка в ЭЭК и волокнах нервных сплетений
- ВИП- вазодилятатор
  липолитическая активность
  гликогенолиз
  повышение экскреции магния, кальция, фосфатов, Na, K и др.
- Синдром Вернера-Моррисона «Випома» поджелудочной железы – водная диарея, гипокалиемия, гиперкальциемия, тетания

Нейроэпителиальные тельца

Нейроэндокринные клетки



Условные обозначения:
ВИП - вазоинтестинальный пептид; АКТГ - адренокортикотропный гормон.

Рис. 4. Схема локализации нейроэндокринных клеток в эпителиальной выстилке.

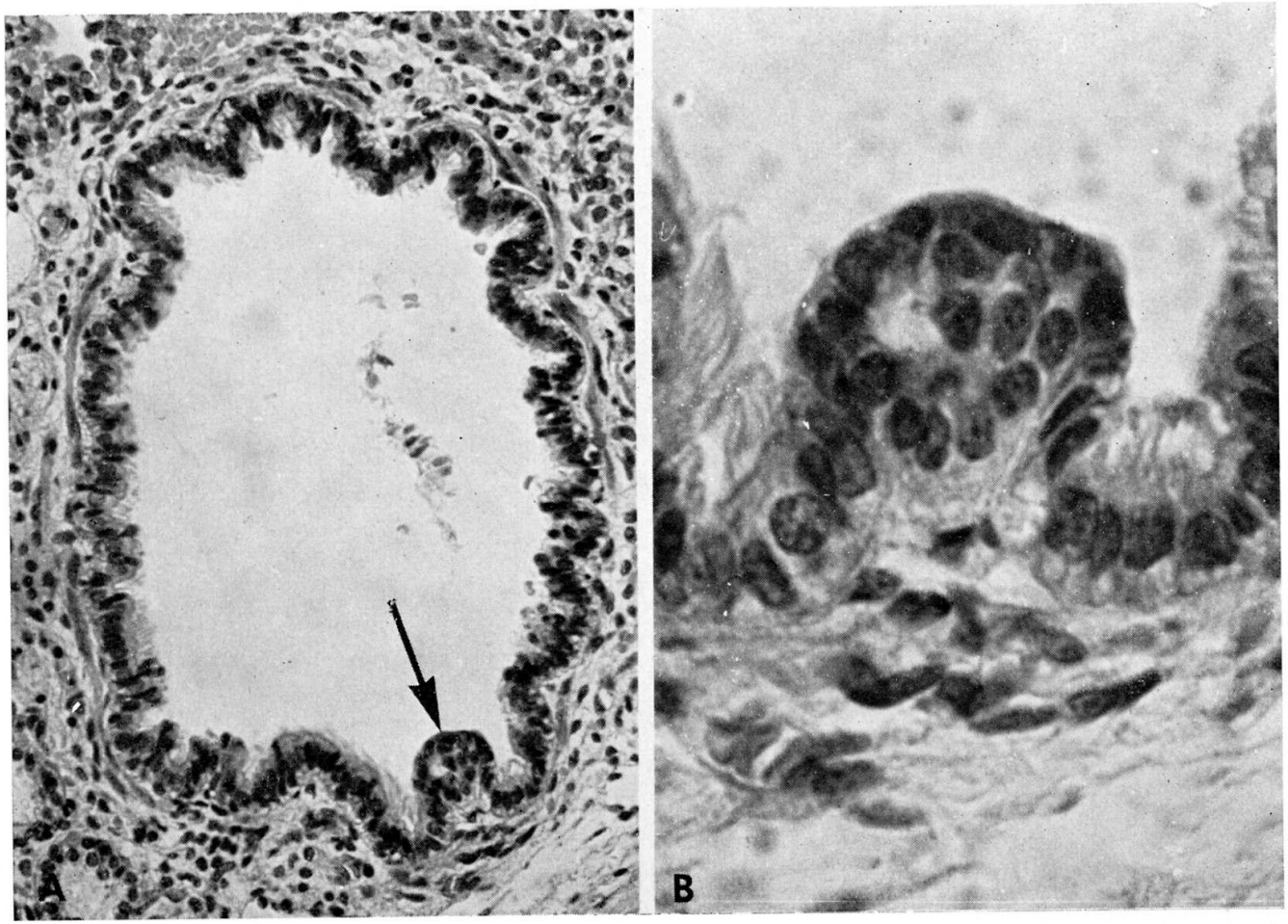


FIG. 2.9. A. Normal human infant bronchus showing a neuroepithelial body (arrowed) incorporated in the epithelium. B. An enlargement of the neuroepithelial body seen in A. On its luminal surface it is lined by non-ciliated epithelial cells whereas the rest of the bronchus is lined by ciliated cells. A × 300 approx. B × 1100 approx.

(Reproduced by courtesy of Prof. Dr. J. W. Lauweryns, Louvain and the Editor and publishers of *Anatomical Record*.)

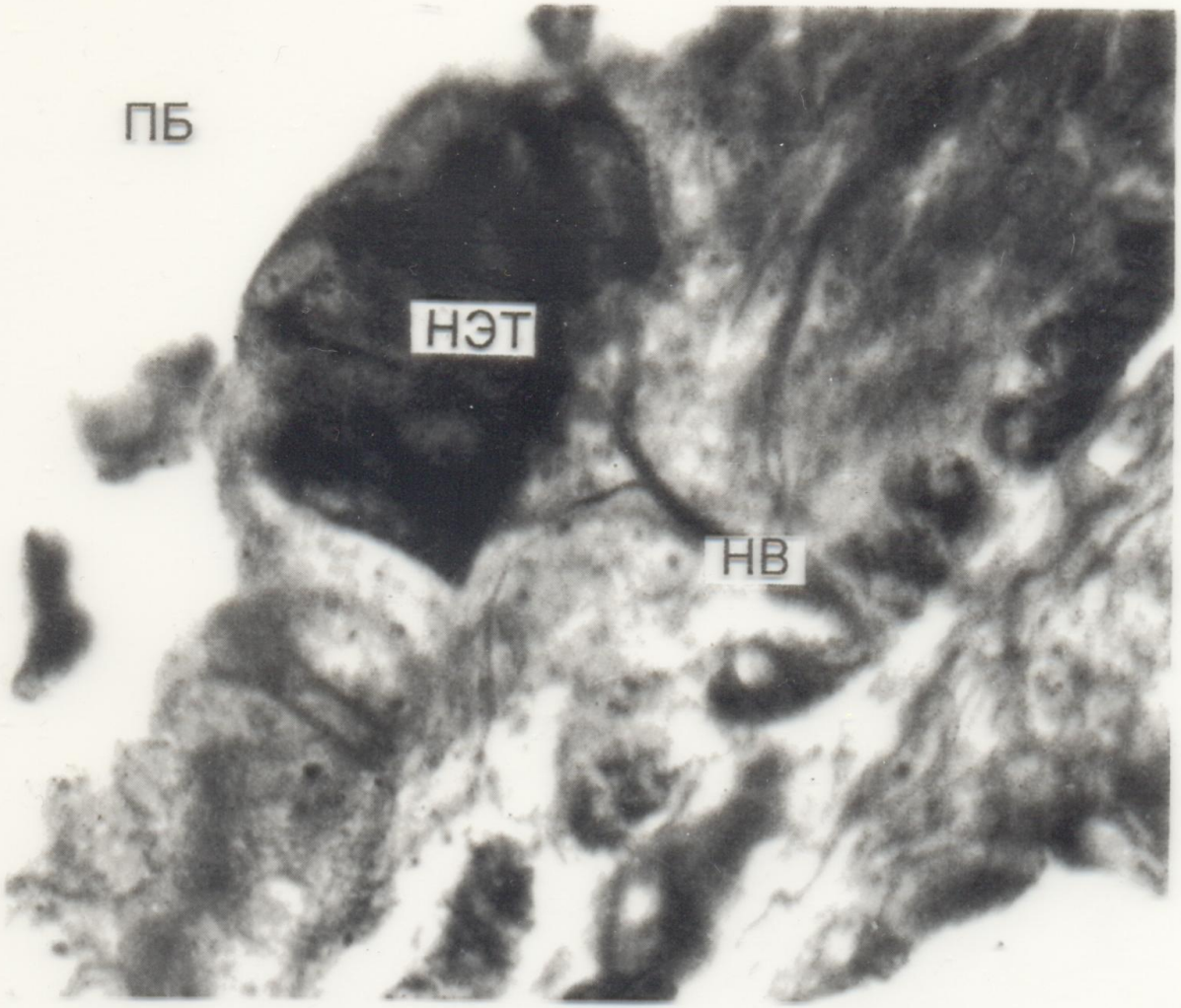


Рис. 11.8. Нервные волокна (НВ) проникают в НЭТ эпителия бронха легких взрослой крысы. Импрегнация по Гримелиусу. Ув. 1000.
ПБ — просвет бронха.

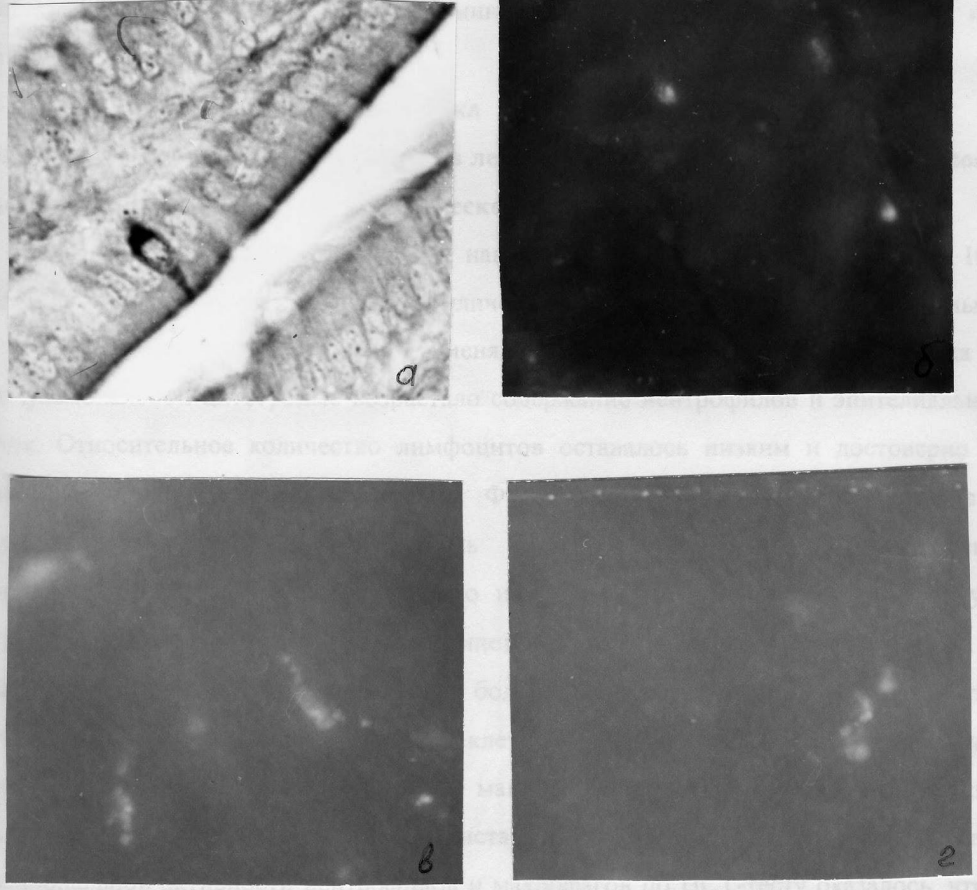


Рис.25. Двенадцатиперстная кишка крысы Вистар.

а, б) Контрольная группа: *а*) нейроэндокринная клетка в эпителии ворсинки. Окраска по Гримелиусу х 900; *б*) яркая флюоресценция (+++) нейроэндокринных клеток в эпителиальном пласте. *в, г*) Опытная группа: *в*) однократная гипоксическая нагрузка газовой смесью, содержащей 10% кислорода: умеренная (++) флюоресценция нейроэндокринных клеток эпителиального пласта; *г*) однократная гипоксическая нагрузка газовой смесью, содержащей 5% кислорода: слабая (+) флюоресценция нейроэндокринных клеток эпителиального пласта. *б, в, г* - криостатные срезы, обработанные по методу Фалька х 1000.

Рис.20. Слизистая оболочка двенадцатиперстной кишки крысы Вистар контрольной группы.

Гранулы серебра в нейроэндокринных клетках ворсинок.

Окраска по Гримелиусу х 600.

Взаимосвязь числа ЕС-ЭЭК с чувствительностью к стрессу и гипоксии

Содержание общего тестостерона, серотонина в крови крыс контрольной группы и в разные сроки после введения омнадрена

Группы наблюдений	Уровень тестостерона (нг/мл)	Серотонин (нг/мл)
Контрольная	1) 2,01 ± 0,55	4) 315,82+40,42
Омнадрен 7-е сут	2) 14,56 ±1,65	5) 207,41+87,04
Омнадрен 21-е сут	3) 9,6 ±2,3	6) 41,82±14,12
Достоверность различий	P(1-2)<0,01 P(1-3)<0,05	P(4-6)<0,05 P(5-6)<0,05

Изменение количества энтероэндокринных клеток в эпителии тонкой и толстой кишки при введении омнадрена

Отделы кишечника	Группы наблюдений	Кол-во ЭЭК Серозной слизистой оболочки
Двенадцатиперстная кишка	Контрольная	1) 73,8±5,5
	Омнадрен 7-е сут	2) 88,4±6,7
	Омнадрен 2 1 -е сут	3) 88,4±3,8
Тощая кишка	**Контрольная**	**4) 71,4±6,5**
	Омнадрен 7-е сут	**5) 58,6±4,6**
	Омнадрен 2 1-е сут	**6) 52,8±5,6**
Подвздошная кишка	**Контрольная**	**7) 22,2±1,9**
	Омнадрен 7-е сут	**8) 25,8±3,1**
	Омнадрен 2 1 -е сут	**9) 15,4±1,8**
Ободочная кишка	Контрольная	10) 98,8±24,4
	Омнадрен 7-е сут	11) 93,4±13,1
	Омнадрен 2 1 -е сут	12) 94,6±21,7
Достоверность различий		P(1-2)<0,01 P(1-3)<0,01 P(4-6)<0,01 P(7-9)< 0,03 P(8-9)< 0,03

Изменения популяции НЭК в разные возрастные периоды и при разных физиологических состояниях

1. Наибольшее количество клеток у плода
2. С возрастом количество ЭК уменьшается
3. В эпителии бронхов у взрослых европеоидов практически отсутствуют, а у азиатов – достаточное большее число

Изменения популяции ЭК в разных физиологических условиях

1. Кролики – острая гипоксия, усиление секреции, хроническая гипоксия - увеличение числа ЭК
2. В условиях хронической гипоксии – высокогорье, Мексика – увеличено число ЭК и тучных клеток у взрослого населения
3. При питании преимущественно растительной пищей число ЭК увеличивается

Изменения популяции НЭК в патологии

1. При хронических воспалительных процессах в эпителиальной выстилке бронхов увеличивается число НЭК
2. Увеличение числа ЕС-клеток (серотониноцитов) при НЯК и болезни Крона
3. Увеличение числа энтериноцитов, синтезирующих мелатонин, при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки (Korblihtt et al., 1993; Осадчук М.А., 1996)

- Физиологические и патологические процессы в органах, содержащих нейроэндокринные клетки, всегда связаны с изменением их количества и секреторной активности

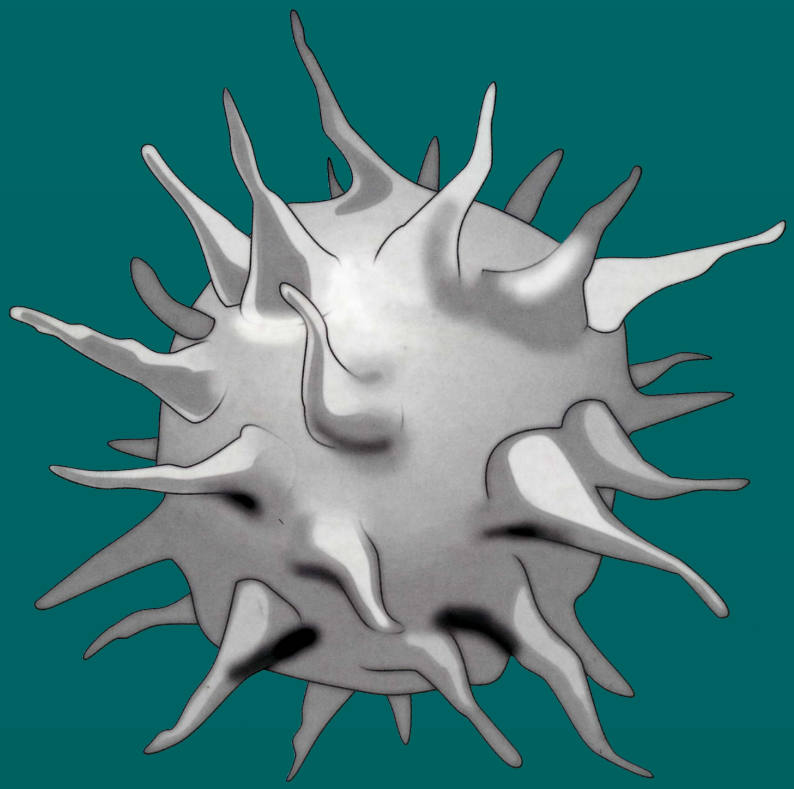
- Количественные и качественные изменения эндокринных клеток в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта тесно сопряжены с изменениями нейропсихологического статуса, вегетативными дисфункциями, гормональными нарушениями, вторичным иммунодефицитом

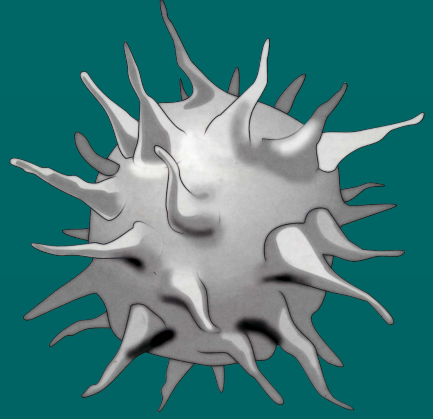
Проблемы

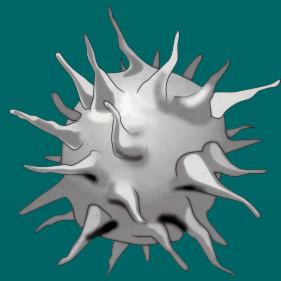
1. Не охарактеризована структура и молекулярно-биологические механизмы взаимосвязей между ЭЭК и нервной системой

2. Не ясны механизмы секреции

3. Нет систематизированного представления об изменениях популяции ЭЭК при изменении физиологического состояния и в патологии. Недостаточно изучены механизмы взаимодействия на локальном уровне нервной, эндокринной и иммунной системы







Благодарю

за консультативную помощь профессора Яглова В.В., информационную поддержку н. с. Андрееву Е.В., техническую помощь н.с. Юдину Е.Б.