

УДК 616.342-018.25-076-0929

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ ЭНДОГЕННЫХ И ЭКЗОГЕННЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ НА СЛИЗИстую ОБОЛОЧКУ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

¹Могильная Г.М., ¹Каде А.Х., ²Морозова Р.В.

¹ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет»,
Краснодар, e-mail: evglandr@ru;

²ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница», Краснодар

Работа посвящена изучению динамики морфологических и гистохимических преобразований, разыгрывающихся в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки (ДПК) в ответ на экзогенное введение нейропептидов и на нейропептиды, выделяющиеся эндогенно под влиянием транскраниальной электростимуляции (ТЭС). Материалом для исследования послужили кусочки ДПК, взятые от крыс, разделенных на три группы. Первая – контрольная, вторая – животные, подвергавшиеся ТЭС-терапии. Третья – это животные, которым вводили даларгин в дозе 24 мкг/кг массы тела каждые 12 часов в течение 11 дней. Изучены морфологические параметры слизистой ДПК и темп синтеза эпителиоцитами слизистой муцина. Оказалось, что трехдневная ТЭС-терапия приводит к увеличению толщины слизистой (в 2 раза), высоты ворсинок и глубины крипт. При этом глубина крипт нарастает от $144 \pm 7,3$ мкм (в контроле) до $284 \pm 26,03$ мкм. Бокаловидные клетки ДПК увеличивают темп синтеза муцинов, и общая муцин продуцирующая активность резко увеличивается. При экзогенном введении даларгина, морфометрические параметры ДПК нарастают постепенно: первоначально увеличивается толщина слизистой (2-е сутки), затем высота ворсинок и глубина крипт (4-е сутки). Активация синтеза муцинов приурочена лишь к 4-м суткам наблюдения. На 11-е сутки введения даларгина и число бокаловидных клеток, и темп синтеза ими муцина приближаются к уровню контроля. Таким образом, эффект ТЭС-терапии – это резко выраженная гиперплазия слизистой и активация темпа синтеза муцинов бокаловидными клетками. Эффект экзогенного даларгина однонаправлен, но пролонгирован во времени, а темп синтеза муцинов выражен менее активно.

Ключевые слова: нейропептиды, двенадцатиперстная кишка, транскраниальная электростимуляция

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF MORPHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL OF THE INFLUENCE OF ENDOGENOUS AND EXOGENOUS NEUROPEPTIDES ON THE MUCOSA OF THE DUODENUM

¹Mogilnaya G.M., ¹Kade A.H., ²Morozova R.V.

¹Kuban State Medical University, Krasnodar, e-mail: evglandr@ru;

²Children's regional clinical hospital, Krasnodar

This paper studies the dynamics of morphological and histochemical changes that take place in the mucosa of duodenum in response to exogenous administration of neuropeptides and to neuropeptides endogenously evolved under the influence of transcranial electrostimulation (TES). Material for investigation are pieces of duodenum taken from the rats which were divided into three groups. First – a control, the second – the animals exposed TES-therapy. Third – animals which were administered with dalargin in a dose of 24 mg/kg body weight, every 12 hours within 11 days. Morphological parameters of duodenal mucosa and rate of mucin synthesis by mucosal epithelial cells are studied. It turned out that a three-days TES therapy increases mucosal thickness (2), the height of the villi and crypt depth . Thus crypt depth increases from $144 \pm 7,3$ mm (control) to $284 \pm 26,03$ microns. Goblet cells of duodenum increase a rate of mucin synthesis, and total mucin producing activity increases dramatically. When dalargin is administered exogenously, morphometric parameters of duodenum grow gradually: initially increases mucosal thickness (2nd day), then the height of villi and crypt depth (4th day). Activation of mucin synthesis occurs only on 4th day of observation. On 11th day after dalargin administration the number of goblet cells and the rate of mucin synthesis approach a control level. Thus, the effect of TES-therapy is a pronounced hyperplasia of the mucosa and activation of rate of mucin synthesis by goblet cells. The effect of exogenous dalargin administration is unidirectional, but prolonged in time, and the rate of mucin synthesis is less active.

Keywords: neuropeptides, the mucosa of the duodenum, transcranial electrostimulation

Обзор литературы свидетельствует, что эндогенные опиоидные пептиды принимают участие в регуляции деятельности органов желудочно-кишечного тракта и в поддержании гомеостаза [2, 3, 4, 6]. Обычно они находятся в состоянии относительного «покоя», активируясь в условиях его нарушения. Так, любой болевой раздражитель, сигнализирующий о наличии повреждений, приводит к высвобождению в кровь и ликвор опиоидных пептидов, которые вовлекаются в процесс регенерации, акти-

вируя его. Эффект нейропептидов изучен в эксперименте и в клинике при экзогенном их введении [1, 7]. Однако известно, что при транскраниальной электростимуляции (ТЭС) происходит выделение эндогенных опиоидных пептидов, которые моделируют выход медиатора, регулирующего функции гастродуоденальной зоны, и ТЭС-терапия нашла широкое применение в гастроэнтерологии. Однако данные о морфофункциональных преобразованиях органов желудочно-кишечного тракта и,

в частности, двенадцатиперстной кишки, находящейся под воздействием ТЭС, в литературе отсутствуют.

Целью настоящего исследования является сравнительная характеристика морфометрических и гистохимических изменений, происходящих в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки при экзогенном введении нейропептидов, а также в условиях их эндогенной стимуляции под влиянием терапевтических доз ТЭС.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили крысы-самцы массой 200–250 г. В соответствии с поставленными задачами животные были разделены на несколько групп. Первая – это контрольная. Вторая – это животные, которым вводили (экзогенно) даларгин в дозе, соответствующей терапевтической. При этом препарат вводили каждые 12 часов. Животных этой группы умерщвляли на 2, 4, 7 и 11 сутки ежедневных инъекций даларгина. Третья группа – это животные, которых подвергали ТЭС-терапии, последнюю проводили в анальгетическом режиме с частотой импульсов 79 Гц, длительностью $3,75 \pm 0,25$ мс, продолжительность процедуры 30–40 минут. Сеансы ТЭС проводили в течение 3-х дней. Для морфологического изучения использовали кусочки слизистой ДПК с заделкой материала в парафин. Окраску срезов проводили гематоксилином и эозином, а также с помощью комплекса гистохимических методов, принятых для избирательного выявления муцинов [5]. Цифровой материал подвергали статистической обработке с использованием программного обеспечения World Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

При оценке морфометрических параметров слизистой оболочки ДПК оказалось, что после сеансов ТЭС-терапии толщина слизистой в среднем составляет $1128 \pm 122,9$ мкм и при сравнении с исходной характерной для контрольных животных ($668 \pm 28,73$) увеличивается почти в 2 раза. Соответственно возрастает и высота ворсинок, достигая $626 \pm 15,35$ мкм. Глубина крипт как элемент герминативного компартмента под влиянием ТЭС-терапии также нарастает. Так, у контрольных животных глубина крипт составляет в среднем $144 \pm 7,3$ мкм, а в случае воздействия ТЭС она оказалась равной $284 \pm 26,03$ мкм. При экзогенном введении даларгина также происходит изменение морфометрических параметров слизистой ДПК, но они менее выражены и регистрируются лишь на 4-е сутки введения нейропептида. В течение первых двух суток выявляется увеличение лишь толщины слизистой оболочки, которая в среднем составляет до $786 \pm 20,1$ мкм. В то же время высота ворсинок и глубина крипт в эти сроки практически не меняются. На четвертые сутки экзогенного введения даларгина при толщине

слизистой $933 \pm 16,75$ мкм происходит увеличение и высоты ворсинок ($594 \pm 28,48$) и глубины крипт, сопоставимые с показателями, характерными для интактной слизистой в условиях действия ТЭС. Пролонгированное введение даларгина (7-е сутки) приводит к некоторому снижению морфометрических показателей, которые на 11-е сутки введения даларгина возвращаются к исходному уровню (таблица).

Использованные гистохимические методы выявления нейтральных и кислых муцинов показали, что у контрольных животных при окраске по методу ШИК положительную реакцию обнаруживают секрет бокаловидных glanduloцитов (БГ) и каемка кишечных энтероцитов. При этом СЦК БГ ворсинок составляет в среднем $2,3 \pm 0,08$ усл.ед., а в зоне крипт – $2,2 \pm 0,08$. Альциановый синий при pH 2,7 окрашивает секрет БГ умеренно, отношение этой окраски каналитическим обработкам позволило интерпретировать наличие в составе секрета этих клеток сиаломуцинов. СЦК БГ контроля для кислых муцинов составляет $1,19 \pm 0,02$. При сопоставлении числа БГ зоны ворсинок и крипт оказалось, что в среднем показатели для этих зон совпадают, ибо число ШИК-реактивных БГ в ворсинке в среднем составляет $26 \pm 2,36$, а в крипте $22 \pm 1,39$. При типировании альцианофильных БГ отчетливо видно, что в зоне ворсинок число их меньше, тогда как в зоне крипт число альцианофильных и ШИК-реактивных клеток совпадает.

В условиях воздействия на интактную слизистую ДПК терапевтической дозы ТЭС отмечается, что БГ увеличивают темп синтеза нейтральных муцинов и СЦК для БГ ворсинок составляет в среднем $3,36 \pm 0,19$, а в зоне крипт – $3,431 \pm 0,11$. При сопоставлении с исходным уровнем отмечается увеличение темпа синтеза муцинов и для БГ ворсинок и крипт ($p < 0,001$). Общая муцинпродуцирующая активность (МПА) в этих условиях по отношению к контролю резко увеличивается. Так, для БГ ворсинок МПА составляет $60,56 \pm 2,3$, а в условиях ТЭС-терапии она увеличивается более чем в 2 раза, составляя в среднем $149,8 \pm 3,4$ усл.ед. Вместе с тем БГ зоны крипт при нарастании СЦК не увеличивают общую муцинпродуцирующую активность, и для этой группы животных она составляет $77,00$ (при $78,2$ – в контроле).

При экзогенном введении даларгина наиболее выраженные изменения регистрируются на 4-е сутки его введения и связаны они со значительным увеличением темпа синтеза бокаловидными клетками нейтральных муцинов и сиаломуцинов. Так,

СЦК БГ ворсинок составляет $2,52 \pm 0,04$, отмечается и увеличение числа этих клеток. Однонаправленные изменения наблюдаются и в БГ зоны крипт, в среднем число БГ на одну крипту составляет $38,4 \pm 3,56$. Увеличивается в них и темп синтеза нейтральных муцинов и СЦК в среднем составляет $2,69 \pm 0,05$ усл.ед. В зоне крипт число БГ с увеличенным темпом синтеза возрастает до 58%, тогда как число умеренно окрашенных клеток не превышает 37%. Эти изменения приводят к увеличению общей муцин-про-

дуцирующей активности, и она составляет для БГ крипт $103,3 \pm 0,05$ усл.ед. Пролонгирование введения даларгина (7 суток) приводит не к увеличению, а напротив, к снижению темпа синтеза нейтральных муцинов и СЦК БГ составляет в среднем $2,49 \pm 0,1$. Снижается и число БГ в составе ворсинок. Однонаправленные изменения происходят и в зоне крипт. На 11-е сутки после введения даларгина и в зоне крипт, и в зоне ворсинок число БГ и темп синтеза ими муцинов почти соответствует уровню контроля.

Морфометрические и секреторные параметры слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки в эксперименте

	Толщина слизистой, мкм	Высота ворсинок, мкм	Глубина крипт, мкм	СЦК ворсинок	СЦК крипт
Контроль	$668 \pm 28,7$	$355 \pm 12,7$	$144 \pm 7,3$	$2,3 \pm 0,08$	$2,2 \pm 0,08$
Интактная слизистая	$1128 \pm 122,9$	$626 \pm 15,3$	$284 \pm 26,0$	$3,36 \pm 0,19$	$3,43 \pm 0,11$
Даларгин 2-й день	$786 \pm 20,1$	$360 \pm 14,97$	$182 \pm 8,36$	$2,47 \pm 0,07$	$2,18 \pm 0,09$
Даларгин 4-й день	$933 \pm 16,75$	$594 \pm 28,4$	$236 \pm 12,0$	$2,52 \pm 0,04$	$2,69 \pm 0,05$
Даларгин 7-й день	$810 \pm 19,0$	$455 \pm 23,08$	$214 \pm 8,5$	$2,49 \pm 0,1$	$2,48 \pm 0,05$
Даларгин 11-й день	$639 \pm 8,34$	$335 \pm 21,3$	$164 \pm 6,2$	$2,32 \pm 0,07$	$2,48 \pm 0,07$

Таким образом, сравнительная динамика структурных компонентов ДПК в условиях экзогенного введения и эндогенной стимуляции выработки нейропептидов показала, что в морфометрическом аспекте наиболее выраженные изменения характерны для ТЭС-терапии. Так, оказалось, что в случае интактной слизистой трехдневная ТЭС-терапия приводит к резкому увеличению толщины слизистой по отношению к контролю в 2 раза с одновременным увеличением высоты ворсинок и глубины крипт. Особое внимание привлекает показатель глубины желудочных ямок, который возрастает до 284 мкм, свидетельствуя об активации процесса регенерации с вовлечением герминативного компартмента. Ощутимый эффект регистрируется и в случае экзогенного введения даларгина, но в срок, соответствующий 4-м суткам. Это положение справедливо и в отношении ворсинок, ибо увеличение их высоты, характерное для интактной слизистой после сеанса ТЭС-терапии, сопоставимо с эффектом экзогенного введения даларгина лишь на 4-е сутки.

Что же касается темпа синтеза муцинов, то как фактор защитного барьера он реализуется прежде всего в рамках ТЭС-терапии, при которой БГ и ворсинок, и крипт обнаруживают достаточно высокий СЦК $3,36 \pm 0,19$ и $3,43 \pm 0,11$ соответственно. Экзогенное введение нейропептида не оказывает выраженного влияния на увеличение темпа синтеза муцина бокаловидными клетками, и следует отметить, что эффект нейропептида как фактора активации защитного барьера здесь ускользает.

Список литературы

1. Курзанов А.Н. Могильная Г.М. Пейливаньян Э.Г. Динамика компонентов защитного барьера желудочно-кишечного тракта при воздействии нейропептидов // Труды Республиканского центра функциональной хирургической гастроэнтерологии. – Краснодар, 1999. – Т. 3. – С. 373–379.
2. Курзанов А.Н. Роль энкефалинов в пептидергической и холинергической регуляции гастродуоденопанкреатического комплекса: дис. ... д-ра мед. наук. – Краснодар, 2001.
3. Масюк Т.В., Весельский С.П., Масюк А.И. Влияние энкефалинов на секреторную функцию печени // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 1998. – Т. 84. – С. 399–405.

4. Полонский В.М. Синтетические аналоги энкефалинов при экспериментальной патологии пищеварительной системы: дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1990.

5. Pearse A. Histochemistry. Theoretical and applied. – London, 1968. – 561 p.

6. Valle L., Pol O., Puig M. Intestinal inflammation enhances the inhibitory effects of opioids on intestinal permeability in mice // J. of Pharmacol. and Experim Therapeutics. – 2001. – № 296. – P. 378–387.

7. Zagon J., Wu Y., McLaughlin P. Opioid growth factor is present in human and mouse gastrointestinal tract and inhibits DNA synthesis // Am. J. Physiol. – 1997. – Vol. 272. – P. 1099–1104.

4. Polonskij V.M. Sinteticheskie analogi jenkefalinov pri jeksperimen-tal'noj patologii pishhevaritel'noj sistemy: dis. dok. med. nauk, M., 1990.

5. Pearse A. Histochemistry. Theoretical and applied. London. 1968. 561 p.

6. Valle L., Pol O., Puig M. Intestinal inflammation enhances the inhibitory effects of opioids on intestinal permeability in mice. J. of Pharmacol. and Experim Therapeutics. 2001. 296. pp. 378–387.

7. Zagon J., Wu Y., McLaughlin P. Opioid growth factor is present in human and mouse gastrointestinal tract and inhibits DNA synthesis. Am. J. Physiol. 1997. Vol. 272. pp. 1099–1104.

References

1. Kurzanov A.N. Mogil'naja G.M. Pejlivan'jan Je.G. Dinamika komponentov zashhitnogo bar'era zheludochno-kishechnogo trakta pri vozdejstvii neuropeptidov. Trudy Respublikanskogo centra funkcional'noj hirurgicheskoj gastrojenterologii. Krasnodar, 1999. T.3. pp. 373–379.

2. Kurzanov A.N. Rol' jenkefalinov v peptidergicheskoj i holinergicheskoj reguljácii gastroduodenopankreaticheskogo kompleksa: Dis. dok. med. nauk. Krasnodar, 2001.

3. Masjuk T.V., Vesel'skij S.P., Masjuk A.I. Vlijanie jenkefalinov na sekretornuju funkciju pecheni. Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M.Sechenova. 1998. T.84. pp. 399–405.

Рецензенты:

Абушкевич В.Г., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии, ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар;

Шантыз А.Ю., д.б.н., профессор кафедры анатомии, ветеринарного акушерства и хирургии, ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет», г. Краснодар.

Работа поступила в редакцию 18.02.2014.