



ИЗМЕНЕНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Яковлева Л. М., Любовцева Л. А., Тимофеева М. Д.

Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова, Чебоксары

РЕЗЮМЕ

Было изучено влияние этанола на биоаминсодержащие структуры стенок тощего и подвздошного отделов кишечника на различных сроках хронической алкогольной интоксикации. С помощью методов люминесцентной микроскопии и цитоспектрофлюориметрии впервые дана количественная характеристика содержания катехоламинов и серотонина в энтероцитах эпителиального слоя ворсин, тучных клетках подслизистой основы, энтероцитах крипт и мышечной оболочке. Установлено, что на начальном сроке хронической алкогольной интоксикации сроком 60 суток у крыс наблюдается увеличение содержания серотонина и его влияние на структуры кишечника. На более длительных сроках алкогольной интоксикации происходит нарушение взаимосвязей между биогенными аминами, где начинают преобладать катехоламины.

Ключевые слова: тощая кишка; подвздошная; алкоголь; катехоламины; серотонин.

SUMMARY

The effect of ethanol on the bioamin containing structures of the jejunum and ileum walls at different periods of chronic alcoholic intoxication was investigated. The quantitative description of the catecholamine and serotonin content in the enterocytes of epithelial lining villi, submucosa mast cells, crypt enterocytes and muscle membrane is given for the first time by means of luminescent microscopy and cyto spectrofluorimetry. It was established that in the initial period of chronic alcohol intoxication for 60 days in rats increased serotonin effect on intestinal functional structures was observed. On longer terms there is a disturbance of relationships of biogenic amines and the regulating role of catecholamines starts to prevail.

Алкогольная болезнь, включающая острую и хроническую интоксикации с поражением внутренних органов остается в центре внимания многих исследователей в связи с чрезвычайно высокой распространенностью среди населения [3]. Болезнь приобретает социальное значение, а ее лечение остается одной из актуальных проблем современной клинической гастроэнтерологии, так как 46,6% больных алкоголизмом состоят на учете по поводу заболеваний органов пищеварения [5]. Ее клинические проявления начинаются с симптомов «раздражения» органа и достигают глубоких признаков нарушения с последующим развитием симптомов недостаточности [7].

При этом клинические и экспериментальные исследования, связанные с изучением алкогольного поражения желудочно-кишечного тракта и его коррекции, в основном направлены на выявление

патологии проксимального отдела пищеварительного канала. Особое место занимают желудок и двенадцатиперстная кишка, так как здесь возникает непосредственно длительный контакт со слизистой оболочкой и начинается адсорбция этанола путем диффузии. Однако взаимодействие алкоголя с желудочным химусом способствует всасыванию не более 21%, оставшаяся часть — 80% — постепенно, порционно поступает в тонкий кишечник и там продолжается дальнейшая диффузия. Большая часть (53%) при этом всасывается в тощей кишке, 9% — в двенадцатиперстной, оставшаяся — в подвздошной кишке [6].

Начальным звеном повреждения органа является прямое цитотоксическое действие этанола. В связи с малым размером и слабой поляризацией молекул алкоголь легко растворяется в жирах цитоплазматических мембран, в результате чего

возникает изменение микросвязей и упорядоченности липидно-гидрофобного матрикса, вызывая их структурную перестройку [9; 11]. В фосфолипидном бислое происходит разжижение и появляются свободные пространства для проникновения других веществ. Из-за разницы количественного содержания алкоголя в полости тощего и подвздошного отдела кишечника возникает необходимость в проведении сравнительного анализа изменений, возникающих в данных отделах кишечника у экспериментальных крыс.

Особо следует отметить реакционный метаболит этанола — ацетальдегид, который образуется под воздействием алкогольдегидрогеназы. Его содержание в слизистой оболочке желудка и кишечника невелико, поэтому большая часть высокотоксичного соединения образуется печеночной алкогольдегидрогеназой. При хронической алкогольной интоксикации содержание ацетальдегида возрастает в организме в несколько раз и при участии альдегиддегидрогеназы подключается в окислительные процессы ферментных систем всех клеток организма. В конечном счете каскад биохимических реакций, инициированный избыточным количеством этанола, приводит к формированию прогрессирующего хронического поражения кишечника.

Цель исследования — изучение изменений содержания биоаминов в нейроаминсодержащих структурах различных отделов стенки кишечника при экспериментальной хронической алкогольной интоксикации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на белых беспородных крысах массой 180–200 г. Животные были разделены на две группы: интактная — контрольные 10 животных и опытная — по 12 животных в трех временных группах опыта. Опытная группа в качестве единственного источника питьевой воды получала 20%-ный раствор этилового спирта в течение 60, 120 и 180 суток. Все действия, предусматривавшие контакт с лабораторными животными, осуществлялись с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР) и Федерального закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997.

Объектом исследования служили фрагменты тощего и подвздошного отделов кишечника, которые изымались в течение 4–6 минут после декапитации и замораживались в криостате при температуре -20°C . Криостатные срезы подвергались люминесцентно-гистохимическому методу Фалька — Хилларпа [10] для определения катехоламинов (КА) и серотонина (С) в структурах кишечника. Количественное содержание биоаминов оценивалось с помощью цитоспектрофлуориметрии на люминесцентном микроскопе ЛЮАМ-4 (ЛОМО, Россия) с насадкой ФМЭЛ-1А (ЛОМО,

Россия). В каждом срезе производили не менее 20 измерений интенсивности свечения, выражая результаты в условных единицах люминесценции (у. е.) по шкале регистрирующего прибора усилителя.

Для демонстрации интегральной биоаминной обеспеченности органа вычисляли серотониновый индекс (СИ), это соотношение серотонина и катехоламинов, который вычислялся по формуле:

$$I_s = C / (KA \cdot N),$$

где С — уровень серотонина, КА — уровень катехоламинов, N — число наблюдений. По СИ можно судить о преобладании в клетке С ($I_s > 1$) или КА ($I_s < 1$). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью персонального компьютера с использованием стандартного пакета программ. Степень достоверности определяли по *t*-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В современной гастроэнтерологии большое внимание уделяется изучению биогенных аминов, т. к. они паракринным воздействием влияют на размножение, дифференцировку молодых клеток и функциональную активность зрелых [1]. В кишечнике одним из наиболее распространенных эндокриноцитов являются энтерохромаффинные ЕС-клетки, синтезирующие серотонин [2]. Нами при исследовании содержания серотонина в различных нейроаминсодержащих структурах тощера и подвздошного отделов кишечника выявлены изменения, которые зависят от срока алкоголизации крыс.

Алкоголизм протекает в трех стадиях: I — стадия психической зависимости длительностью до 5–7 лет; II — стадия физической зависимости — от 10 до 15 лет; III — стадия алкогольной дегенерации более 15 лет [4]. В эксперименте на крысах данные стадии можно перенести на сроки хронической алкогольной интоксикации, которые соответствуют срокам в 60, 120 и более 180 суток. В начале алкоголизации крыс, на 60-е сутки, мы наблюдали увеличение выработки серотонина в энтероцитах эпителиального слоя ворсин, энтероцитах крипт, тучных клетках и в мышечной оболочке как тощей кишки, так и подвздошной. В тучных клетках тощей кишки и энтероцитах крипт подвздошной кишки он достиг максимального значения — соответственно 144 и 131%. Содержание серотонина продолжало нарастать и на 120-е сутки. На данном сроке максимальное повышение его проявлялось в тучных клетках тощей кишки, однако в подвздошной кишке это повышение наблюдалось в мышечной оболочке — соответственно на 148 и 135%. В энтероцитах эпителиального слоя ворсин тощего



Таблица 1

ИНТЕНСИВНОСТЬ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В СТРУКТУРАХ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫС НА РАЗНЫХ СРОКАХ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ (±)					
Структуры	Группы животных				
	Биогенные амины	Контроль. животные	Опытные животные		
			50 суток	120 суток	180 суток
Энтероциты кишечных ворсин	КА	7,9 ± 0,33	10,2 ± 0,34*	11,21 ± 0,78***	9,75 ± 0,65*
	С	44,60 ± 1,85	46,15 ± 2,24	53,52 ± 2,82**	54,04 ± 2,33*
	СИ	5,64	4,52	4,77	5,54
Тучные клетки подслизистой	КА	8,35 ± 0,58	10,4 ± 0,75*	12,75 ± 1,01***	11,13 ± 1,08*
	С	43,42 ± 2,84	62,72 ± 4,14***	64,21 ± 5,32***	57,34 ± 4,09**
	СИ	5,2	6,07	5,04	5,15
Энтероциты крипт	КА	8,2 ± 0,41	9,85 ± 0,62*	13,07 ± 1,15***	10,99 ± 0,93***
	С	52,45 ± 2,17	65,55 ± 3,86**	68,35 ± 4,19**	61,01 ± 3,41*
	СИ	6,4	6,65	5,23	5,55
Мышечная оболочка	КА	9,6 ± 0,39	10,95 ± 0,48*	15,72 ± 1,14***	14,86 ± 1,21**
	С	47,70 ± 3,87	60,92 ± 3,85*	63,09 ± 4,25*	60,19 ± 4,05*
	СИ	4,97	5,56	4,01	4,05

Примечание: КА — катехоламины; С — серотонин; СИ — серотониновый индекс; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ по сравнению с показателями контрольной группы.

Таблица 2

ИНТЕНСИВНОСТЬ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В СТРУКТУРАХ ПОДВЗДОШНОЙ КИШКИ КРЫС НА РАЗНЫХ СРОКАХ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ (±)					
Группы животных Структуры	Биогенные амины	Контроль. животные	Опытные животные		
			50 суток	120 суток	180 суток
Энтероциты кишечных ворсин	КА	6,7 ± 0,28	8,5 ± 0,34 ***	10,85 ± 0,92***	10,21 ± 0,39*
	С	46,95 ± 2,41	57,80 ± 2,4**	59,01 ± 4,05**	58,35 ± 4,21**
	СИ	7,0	6,8	5,44	5,7
Тучные клетки подслизистой	КА	8,3 ± 0,31	9,6 ± 0,55*	10,9 ± 0,1**	11,5 ± 0,96**
	С	43,90 ± 189	51,0 ± 0,99**	56,98 ± 2,96***	53,34 ± 3,78*
	СИ	5,35	5,31	5,23	4,64
Энтероциты крипт	КА	8,4 ± 0,47	9,75 ± 0,45*	12,85 ± 1,23**	12,16 ± 1,02**
	С	56,80 ± 3,01	74,50 ± 4,48**	68,28 ± 4,05*	67,68 ± 3,96*
	СИ	6,76	7,64	5,31	5,56
Мышечная оболочка	КА	9,15 ± 0,32	10,5 ± 0,51*	14,75 ± 1,85**	13,45 ± 1,22**
	С	55,70 ± 3,45	70,05 ± 3,08**	75,47 ± 3,23***	64,39 ± 2,32*
	СИ	6,08	6,67	5,12	4,78

Примечание: КА — катехоламины; С — серотонин; СИ — серотониновый индекс; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ по сравнению с показателями контрольной группы.

и подвздошного отделов кишечника его увеличение было минимальным по сравнению с другими структурами. При дальнейшем употреблении алкоголя, на 180-е сутки, было выявлено снижение люминесценции серотонина в данных структурах. При этом следует отметить, что в тощей кишке значительное уменьшение наблюдалось в энтероцитах крипт, а в подвздошной аналогичное снижение прослеживалось в мышечной оболочке (табл. 1 и 2).

Как известно, свободный серотонин, оказывающий многофакторное воздействие, влияет на конечное звено дифференцировки молодых клеток [1]. Возрастающий уровень серотонина в начальных стадиях хронической алкогольной интоксикации, возможно, оказывает стимулирующее влияние на процесс регенерации слизистой оболочки, поврежденной мембранотропным действием этанола.

Кроме того, в ответ на содержание этанола в кишечном химусе, адаптационные процессы направлены на его выведение. В связи с этим повышенный уровень серотонина в мышечной оболочке способствует усилению перистальтики и быстрому перемещению кишечного содержимого, которое проявляется кишечной дисфункцией в виде диареи. Данный симптом очень часто наблюдается у большинства больных с хроническим алкоголизмом [8].

При исследовании уровня КА в функционально активных структурах стенки тонкой кишки у крыс с хронической алкогольной интоксикацией было выявлено, что он умеренно равномерно повышается в первые 50 суток. Максимальное увеличение наблюдается в энтероцитах эпителиального слоя ворсин как тощего, так и подвздошного отделов кишечника.

При анализе серотонинового индекса выявляется его увеличение в энтероцитах крипт, тучных клетках и мышечной оболочке, что указывает на возрастание серотонинового влияния в данных структурах. И только в эпителиальном слое ворсин, которые подвергаются наибольшему воздействию этанола, роль серотонина падает.

На 120-е сутки содержание КА значительно увеличивается в исследуемых структурах, однако максимального значения они достигают лишь в мышечной оболочке как тощего, так и подвздошного отделов кишечника.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова Е. К. Серотонин и гистамин при язвенной болезни // Труды 3-й научной сессии Ростовского гос. мед. ун-та. — Ростов /Д., 2000. — С. 80–81.
2. Афанасьев Ю. И. Гистология, цитология и эмбриология. — М.: Медицина, 1999. — 744 с.
3. Говорин Н. В., Сахаров А. В. Гендерные и возрастные особенности структуры алкоголизации пациентов соматического городского стационара // Сиб. вестн. психиатрии и наркол. — 2010. — № 4. — С. 21–25.
4. Коркина М. В. Психиатрия: Учебник для студ. мед. вузов/М. В. Коркина, Н. Д. Лакосина, А. Е. Личко, И. И. Сергеев. — 3-е изд. — М.: МЕДпресс-информ, 2006. — 576 с.
5. Махов В. М. Системная патология органов пищеварения алкогольного генеза // Рус. мед. журн. — 2011. — № 5. — С. 13–16.
6. Митина Л. В., Хохлов А. Л. Оценка эффективности карбамазепина и вальпроевой кислоты при алкогольном поитинтоксикационном синдроме по кинетике этанола и ацетальдегида

На данном сроке показатели серотонинового индекса падают во всех структурах кишечника, но наиболее выражено — в энтероцитах крипт и в тучных клетках.

При более длительной алкоголизации, равной 180 суткам, уровень катехоламинов начал уменьшаться во всех исследуемых структурах, но неравномерно. Выраженное снижение наблюдалось лишь в энтероцитах эпителиального слоя ворсин в тощей и подвздошной кишках, в то же время в мышечной оболочке снижение было минимальным (табл. 1 и 2). Уровень катехоламинов в тучных клетках и в энтероцитах крипт был снижен незначительно. При исследовании серотонинового индекса выявлены значительно низкие показатели, которые свидетельствуют о нарушении взаимосвязи нейроаминов в мышечной оболочке стенки тонкой кишки, в энтероцитах эпителиального слоя ворсин и крипт и в тучных клетках. Данные структуры подвергаются полному катехоламиновому контролю.

Таким образом, злоупотребление алкоголем приводит к атрофическим и некротическим процессам в слизистой оболочке кишечника на фоне изменений нейрогуморальной регуляции ее стенки. На начальной стадии алкогольной интоксикации происходит активация адаптационно-приспособительных процессов в кишечнике, при котором увеличивается содержание серотонина. На фоне этих изменений, возможно, сохраняется нормальная функциональная активность кишечника, несмотря на повреждающее действие этанола. Симптомы кишечной недостаточности при этом проявляются минимально. На фоне возникших изменений дальнейшая алкоголизация сроком 120 и 180 суток способствует активации адреналовой системы и усилению выброса катехоламинов. Они накапливаются в структурах стенки кишечника и усиливают действие вызываемых этанолом катаболических процессов в слизистой оболочке.

Таким образом, в поздней стадии алкогольной интоксикации адаптационные механизмы полностью нарушаются, при этом симптомы «раздражения» кишечника переходят в симптомы недостаточности.

и содержанию биогенных моноаминов // Фармакол. и токсикол. — 1991. — № 5. — С. 60–62.

7. Разводовский Ю. Е. Алкоголь и смертность от язвенной болезни желудка // Вопр. наркологии. — 2004. — № 3. — С. 57–62.

8. Фридман Л. С. Наркология; пер. с англ.-2-е изд., испр./Л. С. Фридман, Н. Ф. Флеминг, Д. Х. Робертс, С. Е. Хайман. — М.; СПб.: Бинум-Невский Диалект, 2000. — 320 с.

9. Юсупова Н. У., Маркова М. Н., Остремский В. Д. Изменение жирнокислотного состава эритроцитарных мембран и тромбоцитов у больных алкоголизмом // 8-й Всес. съезд невропатол., психиатр. и наркологов. — М., 1988. — Т. 1. — С. 467–469.

10. Falk B., Hillarp N. A., Thieme G., Torp A. Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde // J. Histochem. Citochem. — 1962. — Vol. 10. — P. 348–354.

11. Yurtas L. Alcohol intoxicates humans by disrupting cell function/L. Yurtas, B. Dale, W. Klemm // The Addiction letter. — 1991. — Vol. 7. — № 10. — P. 5.

