

Л.М. Яковлева¹, Л.А. Любовцева², М.Д. Тимофеева² и О.С. Кроткова²

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУР ТОЛСТОЙ КИШКИ, СОДЕРЖАЩИХ БИОГЕННЫЕ АМИНЫ, ПОД ВЛИЯНИЕМ АЛКОГОЛЯ

¹ Кафедра патологической физиологии (зав. — проф. Л.Н. Иванов); ² кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. Л.А. Любовцева), Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, e-mail: 28Lybov@mail.ru

При использовании методов люминесцентной микроскопии и цитоспектрофлюориметрии изучены структуры, содержащие биогенные амины, в толстой (ободочной) кишке крыс при их алкогольной интоксикации, продолжавшейся 2, 4 и 6 мес. Обнаружено, что 2- и 4-месячная алкоголизация животных приводит к повышению содержания биогенных аминов в покровном эпителии слизистой оболочки, тучных клетках подслизистой основы, а также в адренергических нервных волокнах прослойки соединительной ткани мышечной оболочки; 6-месячная интоксикация сопровождается стабилизацией содержания биогенных аминов на повышенном уровне.

Ключевые слова: толстая кишка, алкоголь, гистамин, катехоламины, серотонин

В организме содержится большое количество нейромедиаторных биогенных аминов, которые действуют одновременно и как местные гормоны. Они дают широкий спектр биологических эффектов, оказывают регулирующее, адаптивное и повреждающее действие на клетки и ткани. Среди всех этих соединений одно из ведущих мест занимают гистамин (Г), серотонин (С) и катехоламины (КА) [6].

Алкоголь в больших дозах является токсическим агентом, оказывающим влияние практически на все системы организма [13]. Длительное употребление алкоголя ведет к хронической интоксикации, при которой активизируется метаболизм этанола и накапливается ацетальдегид, воздействующий на различные клетки кишечника, включая энтерохромаффинные и другие клетки, содержащие биогенные амины. Возникающие в последних изменения, возможно, являются одной из причин нарушения деятельности кишки при алкогольной интоксикации. Цель настоящего исследования — сравнительный анализ локализации и распределения структур, содержащих биогенные амины, в толстой кишке при алкогольной интоксикации.

Материал и методы. Исследование проведено на белых беспородных крысах массой 160–190 г., которые были разделены на 2 группы: контрольную — интактные животные (n=10) и подопытную (n=30). Крысы подопытной группы в качестве единственного источника питья получали 20% раствор этилового спирта в течение 2, 4 и 6 мес (в каждую временную группу входили по 10 животных). Все опыты проведены с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложения к приказу № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). По окончании эксперимента животных под анестезией декапитировали, после чего

для исследования в течение 4–6 мин брали кусочки поперечной ободочной кишки и сразу замораживали в криостате при температуре –20 °С. Криостатные срезы обрабатывали люминесцентно-гистохимическим методом Кросса [9] для определения Г в покровном эпителии, тучных клетках подслизистой основы и методом Фалька — Хилларпа [11] для определения КА и С в покровном эпителии, тучных клетках подслизистой основы и адренергических нервных волокнах в прослойках соединительной ткани мышечной оболочки. Количественное содержание биогенных аминов оценивали с помощью цитоспектрофлюориметрии и люминесцентного микроскопа ЛЮАМ-4 (ЛОМО, Россия) с насадкой ФМЭЛ-1А (ЛОМО, Россия). Для оценки интенсивности свечения КА использовали светофильтр № 6 (длина волны — 480 нм); С — № 8 (длина волны — 525 нм); Г — № 7 (длина волны — 515 нм). В каждом срезе производили не менее 20 измерений интенсивности свечения, выражая результаты в условных единицах люминесценции (усл. ед.) по шкале регистрирующего прибора усилителя. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью персонального компьютера с использованием стандартного пакета программ. Степень значимости цифровых данных определяли по t-критерию Стьюдента. Различия считали значимыми при P<0,05.

Результаты исследования. При исследовании срезов поперечной ободочной кишки после реакции выявления Г в ее оболочках обнаружено неоднородное люминесцентное свечение. У интактных крыс в покровном эпителии слизистой оболочки выделяются клетки с высоким содержанием Г, которые имеют умеренно выраженное желто-зеленое свечение, в то время как в тучных клетках подслизистой основы свечение более интенсивное и ярко-желтое. Структуры в мышечной оболочке имеют довольно слабое зеленоватое свечение, что указывает на небольшое содержание Г.

Неоднородная люминесценция в оболочках стенки поперечной ободочной кишки сохраняется у крыс и после приема алкоголя. Изменение содержания биогенных аминов подтверждается количественной оценкой. Так, в области покровного эпителия слизистой оболочки у подопытных крыс при этаноловой интоксикации на протяжении 2, 4 и 6 мес происходит постепенное увеличение содержания Г. Наибольшего количества оно достигает к 6-му месяцу и значительно превышает таковое у интактных крыс на 175%. Содержание Г в тучных клетках подслизистой основы к 4-му месяцу составляет 162%, а к 6-му месяцу достигает 164% по сравнению с таковым у интактных животных (таблица).

Динамика содержания С при алкогольной интоксикации в изучаемых структурах поперечной ободочной кишки имеет аналогичную тенденцию. Максимальное значимое его увеличение в покровном эпителии слизистой оболочки происходит к 6 мес (на 150% по сравнению с таковым у интактных животных). В тучных клетках подслизистой основы его концентрация постепенно возрастает во всех временных группах. К 6-му месяцу она значительно превышает первоначальный уровень на 161%. В адренергических нервных волокнах прослойки соединительной ткани мышечной оболочки через 2 мес содержание С становится больше на 120% по сравнению с таковым в контрольной группе, через 4 мес — на 125% и остается таким до конца эксперимента (см. таблицу).

Исследование содержания КА показало, что в покровном эпителии слизистой оболочки его максимальное увеличение (на 134%) определяется ко 2-му месяцу эксперимента. При дальнейшей алкоголизации показатель содержания КА стабилизируется. В тучных клетках подслизистой основы содержание КА постепенно увеличивается и

достигает максимума к 4 мес (174% по сравнению с таковым у интактных крыс). К концу эксперимента концентрация КА здесь составляет 172% по сравнению с контролем. В адренергических нервных волокнах в прослойках соединительной ткани между слоями мышечной оболочки наблюдается общая тенденция увеличения содержания КА. При этом содержание КА в этих структурах преобладает над таковым в эпителиальном слое. Так, через 2 мес концентрация КА достигает 150% по сравнению с нормой, через 4 мес — 160%, а через 6 мес их уровень составляет 155% (см. таблицу).

Обсуждение полученных данных. В современной гастроэнтерологии большое внимание уделяется наличию нейромедиаторов в клетках, так как они влияют на размножение и дифференцировку последних [1], а в связи с этим — изучению особенностей гастроэнтеропанкреатических эндокриноцитов. Так, в собственной пластинке слизистой оболочки и в подслизистой основе выявляются гранулярные люминесцирующие клетки, часть которых можно отнести к клеткам диффузной эндокринной системы, которые обладают скрытой метакромазией и синтезируют нейромедиаторные биогенные амины [3]. Постоянными компонентами соединительной ткани стенки кишечника являются тучные клетки, которые при дегрануляции секретируют Г. Эти клетки с разным содержанием гранул в большом количестве определяются в подслизистой основе [4].

Известно, что хроническая алкогольная интоксикация влияет на содержание биогенных аминов в организме [7]. В результате нашего исследования обнаружено значительное увеличение содержания биогенных аминов в оболочках

Содержание биогенных аминов в структурах поперечной ободочной кишки крыс при алкогольной интоксикации ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, усл. ед.)

Структуры	Биогенные амины	Интактные животные (контроль)	Срок от начала опыта, мес		
			2	4	6
Покровный эпителий	Г	19,9±2,5	21,5±1,8	31±3**	35±4***
	С	25,7±2,6	33,8±2,8*	34,7±2,7*	38±4***
	КА	5,2±1,0	7,01±0,15*	6,1±1,1	6,0±2,0
Тучные клетки подслизистой основы	Г	21,4±1,9	24±3	35±4**	35±4**
	С	32±3	44±4*	46±5*	52±5**
	КА	7,3±0,9	10,5±1,1*	12,7±2,0*	12,5±2,0*
Адренергические нервные волокна в соединительнотканых прослойках мышечной оболочки	С	20,0±1,6	24,0±1,1*	24,9±1,3***	25,5±1,2**
	КА	9,5±1,2	14,3±1,7*	15,2±1,9**	14,7±2,0*

Примечание. Г — гистамин; С — серотонин; КА — катехоламины.

* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001, по сравнению с контролем.

стенки поперечной ободочной кишки, где выявлены клетки, накапливающие Г.

Экспериментально установлено, что в процессе алкоголизации в области всасывательной поверхности слизистой оболочки происходит постепенное увеличение его содержания. Как известно, тучные клетки — накопители биогенных аминов, располагающиеся преимущественно около сосудов, способны высвободить внутриклеточный медиатор воспаления — Г, тем самым увеличивая проницаемость капилляров и вызывая воспалительную реакцию [2, 4]. Г при этом оказывает влияние и на многие другие структуры — нервные волокна, гладкие миоциты и секреторные клетки.

Результаты, полученные в проведенном нами исследовании, дополняют имеющиеся сведения о том, что при алкоголизации увеличивается содержание КА и С в стенке толстой кишки. Источником С в пищеварительном тракте являются энтерохромаффинные клетки, которые относятся к самым распространенным эндокриноцитам кишечного тракта [12]. Полученные экспериментальные данные подтвердили высокое содержание С в этих клетках. Как известно, свободный С влияет на конечное звено дифференцировки клеток [6], возможно, тем самым способствуя увеличению числа бокаловидных клеток, усиливающих образование слизи и выведение этанола.

Полученные результаты гистохимического анализа адренергической иннервации толстой кишки свидетельствуют о наличии отдельных флуоресцирующих волокон и терминалей в подслизистой основе и соединительнотканых прослойках мышечной оболочки. У животных в начальные сроки алкоголизации в стенке поперечной ободочной кишки наблюдается увеличение интенсивности люминесценции КА в адренергических нервных волокнах. При более длительной интоксикации, продолжающейся 6 мес, отмечается снижение запасов КА в адренергических структурах кишки, особенно отчетливо это проявляется в мышечной оболочке.

Таким образом, этаноловая интоксикация способствует увеличению концентрации нейромедиаторов во всех исследованных структурах толстой кишки. Возникающие при этом структурные изменения, возможно, участвуют в ответной компенсаторно-защитной реакции организма на алкогольную интоксикацию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова Е.К. Серотонин и гистамин при язвенной болезни. В кн.: Труды 3-й научной сессии Ростовского гос. мед. ун-та. Ростов на/Д, 2000, с. 80–81.

2. Бережная Н.М. Тучные клетки и гистамин: физиологическая роль. Аллергол. и иммунол., 2003, т. 4, № 3, с. 29–38
3. Быков В.Л. Секреторные механизмы и секреторные продукты тучных клеток. Морфология, 1999, т. 115, вып. 2, с. 64–72.
4. Быков В.Л. Развитие и гетерогенность тучных клеток. Морфология, 2000, т. 117, вып. 2, с. 86–92.
5. Левицкий В.П., Фатеева О.А. и Любченко О.О. Особенности течения алкоголизма и его лечение в зависимости от типа сопутствующих церебрально-сосудистых расстройств. Наркология, 2006, № 6, с. 23–24.
6. Мулендеев С.В. Биологически активные вещества в структурах десны человека при периимплантатах: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саранск, 2007.
7. Разводовский Ю.Е. и Дорошенко Е.М. Влияние таурина на содержание в ЦНС нейроактивных соединений при синдроме отмены этанола. Экспер. и клин. фармакол., 2007, т. 70, № 5, с. 38–43.
8. Трубицина И.Е. Острый и хронический панкреатит у крыс, участие серотонина в образовании и поддержании воспалительной реакции. Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. колопроктол., приложение № 34, 2009, т. 19, № 5, с. 138.
9. Cross S.A., Ewen S.W. and Rost F.W. A study of methods available for cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde. J. Histochem., 1971, v. 3, № 6, p. 471–476.
10. De Ponti F. and Tonini M. Irritable bowel syndrome: new agents targeting serotonin receptor subtypes. Drugs, 2001, v. 61, № 3, p. 317–332.
11. Falk B., Hillarp N.A., Thieme G. and Torp A. Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. J. Histochem. Cytochem., 1962, v. 10, p. 348–354.
12. Rindi G. The "normal" endocrine cell of the gut. Changing concepts and new evidences. Ann. N.Y. Acad. Sci., 2004, v. 1014, p. 1–12.
13. Tang Y. Oats supplementation prevents alcohol-induced gut leakiness in rats by preventing alcohol-induced oxidative tissue damage. J. Pharmacol. Exp. Ther., 2009, v. 329, № 3, p. 952–958.

Поступила в редакцию 10.05.10
Получена после доработки 05.11.10

ALCOHOL-INDUCED CHANGES OF BIOGENIC AMINE-CONTAINING STRUCTURES OF THE LARGE INTESTINE

L.M. Yakovleva, L.A. Liubovtseva, M.D. Timofeyeva and O.C. Krotkova

Using the methods of luminescent microscopy and cytospectrofluorometry, biogenic amine-containing structures were studied in colon of rats subjected to alcohol intoxication of 2, 4 and 6 months' duration. It was demonstrated that 2- and 4-month-long alcohol intoxication of animals resulted in biogenic amine content increase in the mucosal surface epithelium, submucosal mast cells and adrenergic nerve fibers within the connective tissue bands in the muscular tunic. At the same time, 6 month-long intoxication was accompanied by a stabilization of bioamine content at the elevated level.

Key words: *colon, alcohol, histamines, catecholamines, serotonin*

Department of Histology, Cytology and Embryology, I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary