

иммуногистохимическая реакция эпителия развивающегося эпикарда сердца новорожденных крысят к белку PGP 9.5. Прослежены межтканевые взаимоотношения в стенке сердца, определен клеточный состав субэпикардального слоя, предложена схема строения стенки желудочка сердца новорожденной крысы с учетом формирующегося нервного сплетения (рис. 1Г).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Афанасьев Ю. И., Горячкина В. Г.* Сердечно-сосудистая система / Руководство по гистологии // Под ред. Р. К. Данилова. 2-е изд. СПб.: СпецЛит, 2011. Т. 2. С. 241–296.
2. *Коржевский Д. Э.* Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии: руководство / Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик, М. Н. Карпенко и др.; под ред. Д. Э. Коржевского. СПб.: СпецЛит, 2014.
3. *Dettman R. W., Denetclaw W., Ordahl C. V.* Common epicardial origin of coronary vascular smooth muscle, perivascular fibroblasts, and intermyocardial fibroblasts in the avian heart // *Dev. Biol.* 1998. Vol. 193(2). P. 169–181.
4. *Lavine K. J., Ornitz D. M.* Shared circuitry: developmental signaling cascades regulate both embryonic and adult coronary vasculature // *Circ. Res.* 2009. Vol. 104(2). P. 159–169.
5. *Nesbitt T., Nesbitt N., Lemley A., Davis J.* Epicardial development in the rat: a new perspective // *Microsc. Microanal.* 2006. Vol. 12. P. 390–398.

Чуркова М. Л.

РЕАКЦИЯ ЕС-КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ОБОДОЧНОЙ КИШКИ КРЫС НА ВВЕДЕНИЕ ДОКСИЛАМИНА СУКЦИНАТА

*Кафедра медицинской биологии (заведующий – проф. С. В. Костюкевич)
Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова
Минздрава России, Санкт-Петербург,
e-mail: mchurkova@gmail.com; mariya.churkova@szgmu.ru*

Вопросы хрономедицины становятся все более актуальными в современном мире [1]. В Российской Федерации до 4,5 % взрослого населения для коррекции состояний сон – бодрствование используют лекарственные препараты [2], из них более 10 % составляют пожилые люди [3]. При этом прием снотворных препаратов нередко осуществляется неконтролируемо, зачастую увеличивая риск преждевременной смерти [4]. Н₁-блокатор гистаминовых рецепторов – доксиламин сукцинат (ДС) (препарат «Донормил») часто используется для коррекции сна. Он дает хороший клинический эффект. Было показано, что применение ДС не вызывает зависимости у пациентов [5, 6]. Однако у ряда пациентов на фоне приема ДС отмечаются слабые нарушения: тошнота, рвота, диарея, копростаз [6, 7, 8].

Возможно, это связано с реакцией клеток эпителия слизистой оболочки кишки на прием препарата. Однако данных, описывающих морфологическое состояние эпителия слизистой оболочки ободочной кишки, а также количественное содержание ЕС-клеток при введении разных доз и кратности введения ДС в литературных источниках нет.

Цель исследования: изучить основные морфометрические показатели эпителия слизистой оболочки ободочной кишки крыс при введении 1, 20 и 100 т. д. доксиламина сукцината; в частности, исследовать количественное содержание ЕС-клеток эпителия.

Материалы и методы. Работа выполнена на крысах линии Вистар ($n = 30$), самцах в возрасте 4–5 недель, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к Приказу №755 от 12 августа 1977 года Минздрава СССР). Протоколы опытов утверждены этическим комитетом СЗГМУ им И. И. Мечникова.

Животные были разделены на 3 подгруппы исследования по 5 крыс в каждой. Раствор доксиламина сукцината (препарат «Донормил») вводили с помощью зонда в желудок животного. В первой подгруппе исследования (ДС1) в течение месяца вводили по 1 терапевтической дозе (т. д.) препарата; во второй подгруппе (ДС20) в течение месяца – по 20 т. д.; в третьей подгруппе (ДС100) – однократно вводили 100 т. д. Терапевтическая доза рассчитывалась как 13 мг раствора изучаемого вещества на 1 кг веса животного.

Для каждой подгруппы экспериментальных животных была сформирована подгруппа контроля, получавшая аналогичным методом количество физиологического раствора, равное по объему изучаемому препарату (15 крыс). Материал ободочной кишки животных от всех подгрупп исследования (30 образцов кишки) для светооптического исследования забирали через сутки после окончания каждого экспериментального воздействия, фиксировали в 10 %-ном забуференном растворе нейтрального формалина, обезвоживали, заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином Майера с докраской эозином. Для выявления ЕС-клеток использовалась аргентаффинная реакция по Массон-Гамперлю. Оценку и сравнение состояния эпителия слизистой оболочки кишки при экспериментальных воздействиях и в контрольных группах производили визуально под микроскопом «Биомед-6» (ЛОМО, Россия) при об. 40, ок. 7.

В изучаемых образцах кишки определяли глубину крипт и длину ворсинок, а также количественное содержание ЕС-клеток, для чего использовали окулярную морфометрическую сетку (с шагом 10 мкм), размеры соотносили на 1 мм² поверхности среза эпителия слизистой оболочки кишки. Статистическую обработку полученных количественных результатов (количество ЕС-клеток, высота и ширина складок, глубина крипт) производили с использованием программного обеспечения Statistica 10. Для всех данных была применена описательная статистика (критерии Краскела-Уоллиса, Манна-Уитни). Различия в сравниваемых группах считались значимыми при уровне значимости 95 % ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение. При введении доксиламина сукцината во всех подгруппах исследования в эпителии слизистой оболочки ободочной кишки была отмечена избыточная васкуляризация. Средняя высота и ширина

складок эпителия слизистой оболочки кишки у экспериментальных крыс была достоверно ниже, чем данные показатели в подгруппах контроля (рис. 1, А, Б).

Также было отмечено во всех подгруппах исследования достоверное уменьшение глубины крипт эпителия (рис. 1В). Наблюдаемые эффекты снижения значений морфометрических показателей, возможно, связаны с изменением темпов

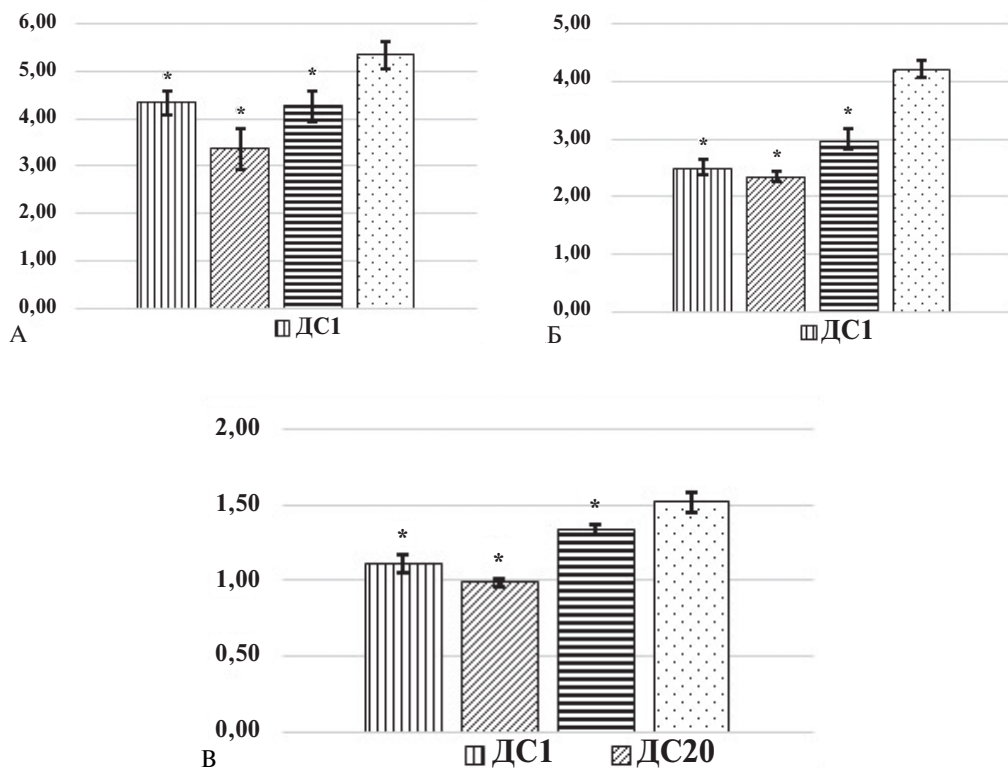


Рис. 1. Средние морфологические показатели слизистой оболочки ободочной кишки, мм: А – высота складок, Б – ширина складок, В – глубина крипт. Различия по сравнению с показателями в контрольной группе значимы при $p < 0,05$. Вертикальные отрезки – значения стандартной ошибки

пролиферации эпителия в ответ на воздействие [9], вследствие истощения местного гомеостаза, с последующей дегенерацией части клеток. Подобное уменьшение высоты складок и глубины крипт было описано ранее при экспериментальном введении крысам токсических веществ, например, цимбуша (инсектицид) [10] или в условиях содержания животных на диете, состоящей из суспензии микробиоты фекалий человека [11]. ЕС-клетки были выявлены во всех подгруппах исследования. Преобладали клетки округлой формы, их размер и локализация во всех подгруппах исследования были сопоставимы. Анализ количественного содержания данной популяции эндокринных клеток показал, что в эпителии слизистой оболочки ободочной кишки экспериментальных животных наблюдается

достоверное увеличение числа ЕС-клеток по сравнению с контролем. При введении 100 т. д. препарата наблюдается увеличение показателя почти в 2 раза (рис. 2).

Ранее было показано, что увеличение числа ЕС-клеток у крыс наблюдается также на фоне введения глюкокортикоидов (например, дексаметазона [12]), при экспериментальной гипоандрогемии [13], стрессе [14], висцеральной гипералгезии (аномальной чувствительности) [15] или при экспериментальном воздействии высокоинтенсивным импульсным магнитным полем [16]. Однако при длительном содержании животных на «западной диете» [17] или диете без клетчатки [18] наблюдается гипоплазия серотонинпродуцирующих клеток.

Подобные закономерности реакции популяции ЕС-клеток были описаны у человека. Так, при развитии воспалительных заболеваний кишки (синдром раздраженной кишки (СРК), болезнь Крона, язвенный колит) в организме человека наблюдается увеличение числа ЕС-клеток [19–23], тогда как при более значительных поражениях (колоктректальном раке [24], неспецифическом язвенном колите [23]) или в стадии ремиссии воспалительных заболеваний (СРК) наблюдалось снижение этого показателя как следствие развития регуляторных механизмов [22].

Таким образом, реакция ЕС-клеток при первичном действии раздражителя (или на начальных стадиях воспаления) может проявляться в виде гиперплазии клеток, затем при истощении компенсаторных механизмов (переходе заболевания в хроническую стадию или деструктивных состояниях) развивается гипоплазия [9, 23]. Наблюдаемую нами реакцию ЕС-клеток можно объяснить активизацией компенсаторных процессов, проявляющихся в виде увеличения эндокринных клеток в ответ на воздействие [25]. Имеются данные о том, что при приеме лекарственных препаратов другого спектра действия по сравнению с доксиламином сукцинатом, например, салофалька [23], также отмечается повышение числа ЕС-клеток. Возможно, наблюдаемая гиперплазия направлена на увеличе-

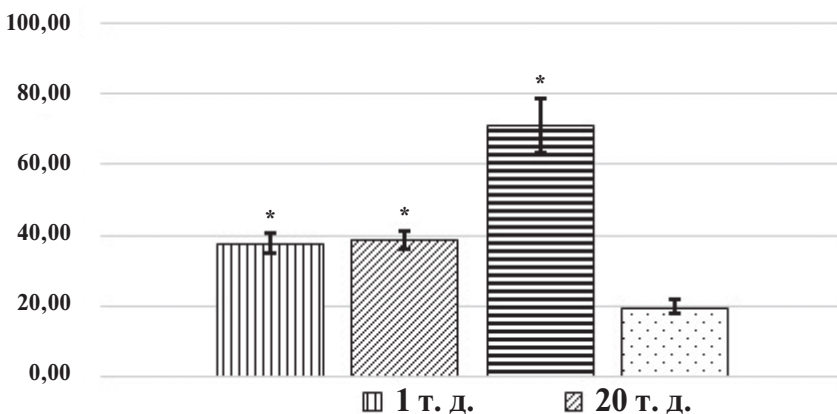


Рис. 2. Количество ЕС-клеток на 1 мм² поверхности среза эпителия слизистой оболочки ободочной кишки, $p < 0,05$ (окраска по методу Массона-Гамперля).

Различия по сравнению с показателями в контрольной группе значимы при $p < 0,05$. Вертикальные отрезки – значения стандартной ошибки

ние выработки клетками этой популяции гормона серотонина, необходимого для повышения функциональной активности толстой кишки, облегчающей эвакуацию и пищеварение [26].

Таким образом, наблюдаемые изменения морфометрических показателей у экспериментальных животных, по-видимому, могут являться реакцией эпителия слизистой оболочки ободочной кишки в ответ на введение доксиламина сукцината.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Раппопорт С. И.* Хрономедицина, циркадные ритмы. Кому это нужно? // Клиническая медицина. 2012. Т. 90, № 8. С. 73.
2. *Голенков А. В., Полуэктов М. Г.* Распространенность нарушений сна у жителей Чувашии (данные сплошного анкетного опроса) // Журнал неврологии и психиатрии. 2011. Т. 111, № 6. С. 64–67.
3. *Полуэктов М. Г., Ляшенко Е. А.* Возможности коррекции инсомнии у пожилых пациентов // Эффективная фармакотерапия. Неврология и психиатрия. 2014. Т. 22, № 2. С. 44–47.
4. *Kripke D. F., Langer R. D., Kline L. E.* Hypnotics' association with mortality or cancer: a matched cohort study // *B. M. J.* 2012. Vol. 2. P. 1–8.
5. *Бабак С. Л., Голубев Л. А., Горбунова М. В.* Хроническая инсомния в клинической практике терапевта // Русский медицинский журнал. 2008. Т. 16, № 5. С. 259–266.
6. *Шавловская О. А.* Применение препарата Донормил (доксиламин) в клинической практике // Русский медицинский журнал. 2008. Т. 11, № 30. С. 1877–1883.
7. *Hausser-Hauw C., Fleury B., Scheck F. et al.* Effect on sleep architecture and residual effect of a dose of 15 mg of Doxylamine in healthy volunteers // *Sep. Hop. Paris.* 1995. Vol. 71(23–24). P. 742–750.
8. *Videla S., Cebrecos J., Lahjou M. et al.* Pharmacokinetic dose proportionality between two strengths (12.5 mg and 25 mg) of Doxylamine hydrogen succinate film-coated tablets in fasting state: a single-dose, randomized, two-period crossover study in healthy volunteers // *Drugs R. D.* 2013. Vol. 13. P. 129–135.
9. *Аруин Л. И., Капуллер Л. А., Исаков В. А.* Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. М.: Триада–Х, 1998.
10. *Раджабов А. Б., Тухсанова Н. Э.* Возрастная анатомия и микроскопическое строение ободочной кишки крыс и ее изменения при воздействии цимбуша // *Морфология.* 2008. Т. 133, № 2. С. 111.
11. *Sharma R., Schumacher U., Ronaasen V., Coates M.* Rat intestinal mucosal responses to a microbial flora and different diet // *Gut.* 1995. Vol. 36. P. 209–214.
12. *Glisić R., Koko V., Todorović V., Drndarević N., Cvijić G.* Serotonin-producing enterochromaffin (EC) cells of gastrointestinal mucosa in dexamethasone-treated rats // *Regul. Pept.* 2006. Vol. 136(1–3). P. 30–39.
13. *Андреева Е. В., Хомякова Т. И., Макарова О. В.* Морфологические изменения слизистой оболочки ободочной кишки и состав просветной микрофлоры у орхиэктомированных половозрелых самцов крыс Вистар // *Андрология и генитальная хирургия.* 2015. Т. 16, № 4. С. 35–38.

14. *Bian Z. X., Qin H. Y., Tian S. L., Qi S. D.* Combined effect of early life stress and acute stress on colonic sensory and motor responses through serotonin pathways: differences between proximal and distal colon in rats // *Stress*. 2011. Vol. 14(4). P. 448–458.
15. *Li Z., Zhang X. J., Xu H. X., Sung J. J., Bian Z. X.* Intracolonic administration of protease-activated receptor-2 agonists produced visceral hyperalgesia by up-regulating serotonin in the colon of rats // *Eur. J. Pharmacol.* 2009. Vol. 606(1–3). P. 199–204.
16. *Драй П. В.* Изменения в эндокринном аппарате ободочной кишки крысы при воздействии высокоинтенсивным импульсным магнитным полем // *Морфология*. 2008. Т. 134, № 5. С. 66.
17. *Bertrand R. L., Senadheera S., Tanoto A. et al.* Serotonin availability in rat colon is reduced during a Western diet model of obesity // *American Physiological Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2012. Vol. 303. P. 424–434.
18. *Mitsui R., Karaki S. I., Kubo Y., Sugiura Y., Kuwahara A.* Fibre-free diet leads to impairment of neuronally mediated muscle contractile response in rat distal colon // *Neurogastroenterol. Motil.* 2006. Vol. 18(12). P. 1093–1101.
19. *Dunlop S. P., Jenkins D., Neal K. R., Spiller R. C.* Relative importance of enterochromaffin cell hyperplasia, anxiety and depression in postinfectious IBS // *Gastroenterology*. 2003. Vol. 125(6). P. 1651–1659.
20. *Flemstrom G., Sjoblom M.* Epithelial cells and their neighbors. II. New perspectives on efferent signaling between brain, neuroendocrine cells, and gut epithelial cells // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2005. Vol. 289. P. 377–380.
21. *El-Salhy M., Danielsson A., Stenling R., Grimelius L.* Colonic endocrine cells in inflammatory bowel disease // *J. Intern. Med.* 1997. Vol. 242(5). P. 413–419.
22. *Осадчук А. М., Осадчук М. А., Балашов А. В., Кветной И. М.* Патологические аспекты клинических вариантов синдрома раздраженного кишечника с позиций нарушения диффузной эндокринной системы и клеточного обновления колоноцитов // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. 2008. № 1. С. 38–44.
23. *Костюкевич С. В., Аничков Н. М., Иванова В. Ф., Орешко Л. С. и др.* Эндокринные клетки эпителия прямой кишки в норме, при неспецифическом язвенном колите и синдроме раздраженной кишки без лечения и при лечении преднизолоном и салофальком // *Архив патологии*. 2004. № 4. С. 23–27.
24. *Чиж А. А., Громов М. С., Чиж А. Г.* Показатели нейрогормонов в прогнозировании течения колоректального рака // *Фундаментальные исследования*. 2007. № 7. С. 60–62.
25. *Moran G. W., Leslie F. C., Levison S. E., McLaughlin J. T.* Enteroendocrine cells. Neglected players in gastrointestinal disorders? // *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 2008. Vol. 1(1). P. 51–60.
26. *Лычкова А. Э.* Серотонинергическая регуляция моторной функции толстой кишки // *Терапевтический архив*. 2013. Т. 2. С. 89–92.