

АКТИВНОСТЬ ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В НЕЙРОНАХ ИНТРАМУРАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ РАЗНЫХ ОТДЕЛОВ ЖЕЛУДКА КРЫС ПРИ ВАГОТОМИИ

Л.С. АГАДЖАНОВА, Т.А. РУМЯНЦЕВА

*ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Революционная ул., д. 5, Ярославль, 150000, Россия, e-mail: lili2573@mail.ru*

Аннотация. Работа посвящена изучению влияния ваготомии на активность холинэстеразы в нейронах интрамуральных ганглиев разных отделов желудка крысы. Исследование выполнено на 80 самцах крыс Вистар. Активность неспецифической холинэстеразы выявлялась в интрамуральных ганглиях желудка крысы в разные сроки после поддиафрагмальной ваготомии на криостатных срезах методом с тиюксусной кислотой. Для оценки топологических различий реакции отдельно оценивали активность фермента в ганглиях большой и малой кривизны, вентральной и дорсальной стенок желудка в участках, соответствующих пищеводному, кардиальному, пилорическому и фундальному (тело) отделам. Установлено, что при ваготомии изменения активности фермента имеют региональные особенности. Максимальное снижение активности фермента наблюдается в ранние сроки на 3-7 сутки. Затем происходит постепенное восстановление уровня холинэстеразы до контрольного. Особая реакция наблюдается в пилорическом отделе, где ваготомия приводит к устойчивому повышению уровня фермента. Анализ изменений по отделам желудка показал, что в целом реакция вентральной и дорсальной стенок во всех отделах была однотипной, т.е. каждый отдел желудка реагировал на ваготомию, как единый сегмент, несмотря на то, что был поврежден вагальный ствол, который содержит преимущественно преганглионарные волокна, связанные с ганглиями вентральной стенки желудка.

Ключевые слова: желудок, крыса, ваготомия, холинэстераза, интрамуральные ганглии.

**CHOLINESTERASE ACTIVITY IN NEURONS OF INTRAMURAL GANGLIA
IN DIFFERENT PARTS OF RATS' STOMACH UNDER THE VAGOTOMY**

L.S. AGADZHANOVA, T.A. RUMYANCEVA

Yaroslavl State Medical University, Revolutionary Str., 5, Yaroslavl, 150000, Russia, e-mail: lili2573@mail.ru

Abstract. The work is devoted to the study of the effects of the vagotomy on the activity of cholinesterase in neurons of intramural ganglia of different parts of the rats' stomach. The study was performed on 80 male Wistar rats. Activity of nonspecific cholinesterase (ChE) was detected in the intramural ganglia of the rat stomach at different times after subdiaphragmatic vagotomy on cryostat sections using the method with thioacetic acid. To evaluate the topological differences in the reaction, the activity of the enzyme in the ganglia of the large and small curvatures, the ventral and dorsal walls of the stomach in the areas corresponding to the esophageal, cardiac, pyloric and fundal (body) divisions was evaluated separately. It was found that at the vagotomy, the changes in the activity of the enzyme have regional features. The maximum decrease in the activity of the enzyme is observed in the early periods on the 3-7th day after the operation. There is a gradual recovery of the level of ChE to the control. A special reaction is observed in the pyloric department, where the vagotomy leads to a steady increase in the level of the enzyme. Analysis of changes in the stomach sections showed that, in general, a reaction of the ventral and dorsal walls in all sections was of the same type, i.e. each section of the stomach reacted to vagotomy as a single segment, despite the fact that the vagal trunc, which contains predominantly preganglionic fibers associated with the ganglion of the ventral wall of the stomach, was damaged.

Key words: stomach, rat, vagotomy, cholinesterase, intramural ganglia

Введение. Вегетативная денервация в настоящее время используется у пациентов для лечения различных заболеваний. Денервация по парасимпатическому компоненту используется для лечения язв желудка [10] и может возникать при хирургическом шунтировании желудка. Симпатэктомия [9] используется для лечения гипергидроза [3], гиперемии лица [5] и множества других состояний [6]. Новые методы лечения, включающие вегетативную денервацию, также могут быть реализованы в будущем для других заболеваний, включающих вегетативный дисбаланс, такой как ревматоидный артрит [7] или хроническая боль [13]. Но денервация влияет на разные компоненты стенки трубчатого органа. Установлено, что при денервации разрушается кишечная регенерация, изменения приводят к аберрантной тканевой функции. Хроническое снижение пролиферации может привести к атрофии слизистой оболочки, мальабсорбции и диарее [11]. В противоположность этому, хроническое увеличение пролиферации может при-

водить к увеличению числа эпителиальных клеток, чрезмерное поглощение питательных веществ [4, 12] и развитие опухолей [8]. К механизмам, вызывающим повреждение стенки органа, несомненно, относятся и разрушение внутриорганых энтеральных рефлекторных дуг в условиях нарушения парасимпатических влияний. Вагальные стволы имеют зоны преимущественной иннервации, что особенно выражено в асимметричных органах, особенно в желудке. Поэтому, при оценке последствий поддиафрагмальной ваготомии и хирургических вмешательств на желудке в целом, необходимо учитывать возможность мозаичности поражения. Это обосновывает актуальность проводимого исследования.

Цель исследования – изучить влияние ваготомии на активность холинэстеразы в нейронах интрамуральных ганглиев разных отделов желудка крысы.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на 80 белых крысах-самцах линии Вистар массой 250 граммов (90 суточного возраста). Ваготомию производили под тиопенталовым наркозом при помощи коагулятора, которым пережигали левый блуждающий нерв на передней стенке брюшного отдела пищевода. После этого мышцы и кожу сшивали послойно. В последующем на 7, 14, 30, 60 сутки после ваготомии животных выводили из опыта согласно правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных. Контролем служили ложнооперированные животные (5 крыс-самцов). Все этапы исследования были выполнены с соблюдением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (*Directive 2010/63/EU*).

Материалом служили различные отделы желудка: большая и малая кривизна, вентральная и дорсальная стенки желудка разделялись на участки, соответствующие пищеводному, кардиальному, пилорическому и фундальному (тело) отделам желудка. Выбор участков определялся по анатомическому описанию желудка крысы [2].

Для выявления активности неспецифической *холинэстеразы* (ХЭ) использовали реакцию с тиоуксусной кислотой (метод с тиоуксусной кислотой в модификации Николаева Г.М. и Шилкина В.В., 1983) на криостатных срезах толщиной 40 мкм.

Активность ХЭ в нейронах интрамуральных ганглиев оценивали по оптической плотности фермента с помощью программы *ImageJ*. Для обработки цифровых данных использовали программу *Microsoft Office Excel*. Оценку значимости результатов проводили по *t*-критерию Стьюдента. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В интрамуральных ганглиях желудка обнаружено значительное количество ХЭ-позитивных нейронов $19 \pm 1,1$. Конечный продукт реакции равномерно распределяется в цитоплазме, плотность его распределения варьирует: встречаются клетки от желтого до темно-коричневого цвета (рис.), оптической плотностью от 1484,7 до 1934,8 ед.

Средний уровень активности ХЭ имеет топологические особенности. Активность фермента в цитоплазме нейронов разных отделов составляет от $51,3 \pm 0,45$ до $67,5 \pm 1,23$ опт.ед. (табл.). Наименьшая активность фермента определялась в пилорическом отделе и составляла $51,3 \pm 0,45$ опт.ед в его вентральной стенке и $52,7 \pm 0,09$ опт.ед в дорсальной. Наибольшей средней активностью отличались ХЭ-позитивные клетки кардиального отдела и области большой и малой кривизны.

В пищеводном отделе желудка после ваготомии отмечается уменьшение активности ХЭ – на 3 сутки в вентральной стенке на 31%, в дорсальной стенке – 40%, на 7 сутки – 9 и 20%, на 14 сутки – 9 и 43%, на 30 сутки – 8 и 17% и на 60 сутки 5 и 15% соответственно. Активность фермента в цитоплазме нейронов снижается на 3 сутки после ваготомии и восстанавливается в целом до уровня интактной группы на 30 сутки. В этом отделе отмечаются более выраженные и устойчивые изменения в дорсальной стенке, что объясняется тем, что волокна, иннервирующие вентральную стенку пищевого отдела, входят в стенку выше зоны оперативного вмешательства.

В кардиальном отделе активность ХЭ уменьшается на 3 сутки после ваготомии в вентральной стенке на 32%, в дорсальной стенке – на 33%, на 7 сутки – на 24 и 35%, на 14 сутки – на 14 и 28%, на 30 сутки – на 16 и 14% и на 60 сутки на 17% и 14% соответственно. Активность ХЭ в нейронах ганглиев стенки кардиального отдела с 3 по 60 сутки значимо отличалась от контроля.

После ваготомии в теле желудка (вентральная стенка) на 3 сутки активность ХЭ снижается на 36%, а в дорсальной стенке на 32%. На 7 сутки – 17 и 25%, на 14 сутки – 49 и 50%, на 30 и 60 сутки восстанавливается до контрольного уровня.

В области большой и малой кривизны активность ХЭ достоверно снижается на 3 сутки после ваготомии, на 7 сутки восстанавливается до уровня контрольной группы и не изменяется до конца наблюдения (60 сутки).

В пилорическом отделе после ваготомии отмечается уменьшение активности ХЭ – на 3 сутки в вентральной стенке 18%, в дорсальной стенке – 17%, на 7 сутки активность фермента в цитоплазме нейронов поднимается выше уровня интактной группы и сохраняется на повышенном уровне до конца периода наблюдения.

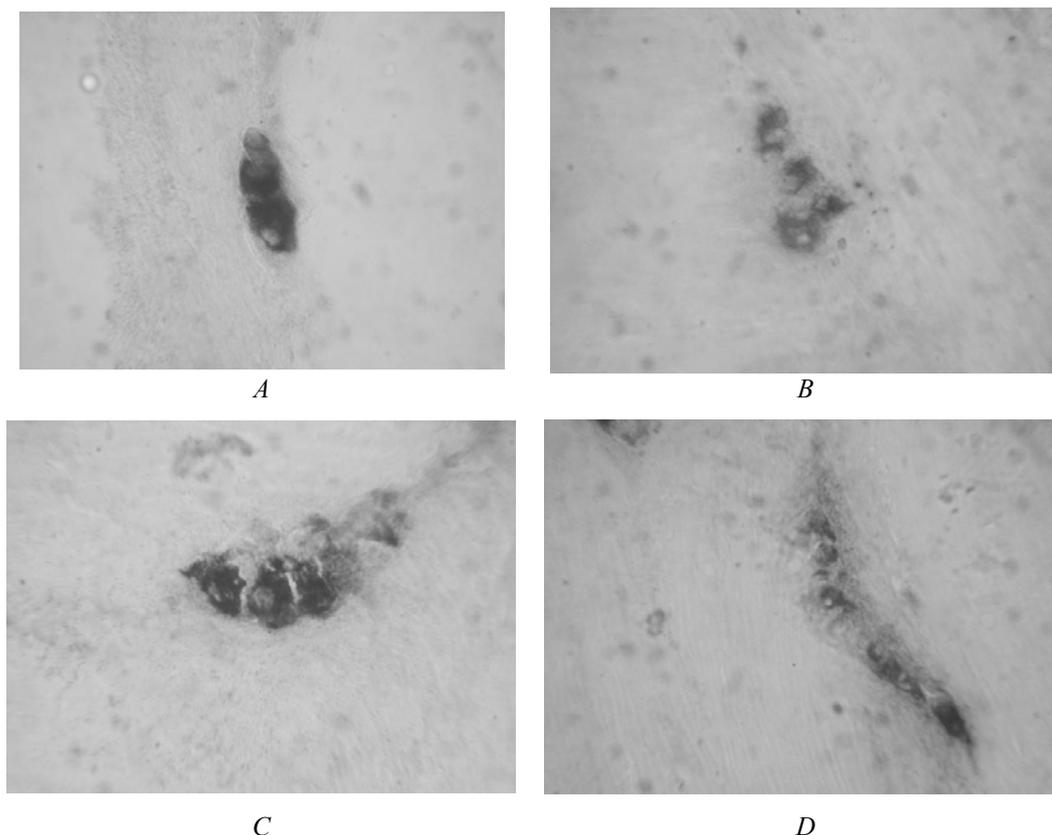


Рис. ХЭ-позитивные нейроны в интрамуральных ганглиях желудка крысы. А. Пищеводный отдел желудка, вентральная стенка, контрольная крыса, 7 сутки после ложной операции. В. Пищеводный отдел желудка, вентральная стенка, 7 сутки после ваготомии. Низкая активность ХЭ. С. Пилорический отдел желудка, вентральная стенка 30 сутки после ваготомии. Высокая активность ХЭ. D. Тело желудка, вентральная стенка, 30 сутки после ваготомии. Низкая активность ХЭ. Микрофото, об. 40, метод с тиюксусной кислотой

Таблица

Активность ХЭ в нейронах интрамуральных ганглиев желудка крыс в норме и при ваготомии

	норма	сутки после ваготомии				
		3	7	14	30	60
Пищеводный отдел вентральная стенка	58,1±0,51	40,3±0,35	53,7±0,71	53,2±1,85 ^a	57,1±1,45 ^a	55,1±2,34
Пищеводный отдел дорсальная стенка	60,34±1,49	36,9±1,54*	48,5±2,09	34,9±2,45 ^a	50,1±2,28	51,1±3,52
Кардиальный отдел вентральная стенка	66,1±2,48*	45,2±1,26*	50,1±2,56*	57,1±0,85 ^a	56,8±1,45*	55,2±0,05*
Кардиальный отдел дорсальная стенка	66,45±0,59*	44,6±1,29	43,1±1,97 ^a	48,8±0,45 ^a	57,3±1,01*	57,2±1,89*
Тело вентральная стенка	59,3±2,62*	38,7±1,34*	49,7±2,56 ^a	30,7±1,75 ^a	56,2±2,33 ^{a*}	63,2±2,06 ^a
Тело дорсальная стенка	60,7±1,35	41,2±2,05	45,8±1,86*	50,1±2,35 ^a	57,4±2,74 ^{a*}	62,3±3,06*
Малая кривизна	67,5±1,23	45,6±2,13	62,5±1,97*	63,4±1,545 ^a	62,5±1,6 ^{a*}	67,7±1,91*
Большая кривизна	65,4±2,33	39,1±1,24	44,9±2,83 ^a	58,2±1,43 ^a	61,7±1,49*	65,6±1,49 ^{a*}
Пилорический отдел вентральная стенка	51,3±0,45	42,4±1,46*	59,6±1,83 ^{a*}	60,4±1,85 ^a	57,4±2,59 ^a	59,4±1,97
Пилорический отдел дорсальная стенка	52,7±0,09	43,5±1,83*	54,3±3,30 ^a	65,7±2,45 ^a	67,5±0,26 ^{a*}	67,4±2,348*

Примечание: * – различия достоверны по отношению к другим отделам, $p < 0,05$; ^a – различия достоверны по отношению к предыдущим срокам, $p < 0,05$

В результате выполненного исследования установлено, что при ваготомии изменения активности фермента имеют региональные особенности [1]. Максимальное снижение активности фермента наблюдается в ранние сроки на 3-7 сутки. Затем происходит постепенное восстановление уровня ХЭ до контрольного. Особая реакция наблюдается в пилорическом отделе, где ваготомия приводит к устойчивому повышению уровня фермента. Анализ изменений по отделам желудка показал, что в целом реакция вентральной и дорсальной стенок во всех отделах была однотипной, т.е. каждый отдел желудка реагировал на ваготомию, как единый сегмент, несмотря на то, что был поврежден вагальный ствол, который содержит преимущественно преганглионарные волокна, связанные с ганглиями вентральной стенки желудка.

Литература

1. Агаджанова Л.С., Румянцева Т.А. Реакция холинэстеразопозитивных нейронов интрамуральных ганглиев при различных моделях денервации // Морфология. 2016. №3. С. 9.
2. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Анатомия крысы. Санкт-Петербург: Издательство «Лань», 2001. 464 с.
3. Dumont P., Denoyer A., Robin P. Long-term results of thoracoscopic sympathectomy for hyperhidrosis // Ann Thorac Surg. 2004. №78. P. 1801–1807.
4. Ferraris R.P., Vinnakota R.R. Intestinal nutrient transport in genetically obese mice // Am J Clin Nutr. 1995. № 62. P. 540–546.
5. Girish G., D'Souza R.E., D'Souza P., Lewis M.G., Baker D.M. Role of surgical thoracic sympathetic interruption in treatment of facial blushing: a systematic review // Postgrad Med. 2017. № 129. P. 267–275.
6. Hashmonai M., Cameron A.E.P., Licht P.B., Hensman C., Schick C.H. Thoracic sympathectomy: a review of current indications // Surg Endosc. 2016. № 30. P. 1255–1269.
7. Koopman F.A., Stoof S.P., Straub R.H., Van Maanen M.A., Vervoordeldonk M.J., Tak P.P. Restoring the balance of the autonomic nervous system as an innovative approach to the treatment of rheumatoid arthritis // Mol Med. 2011. № 17. P. 937–948.
8. Krausova M., Korinek V. Wnt signaling in adult intestinal stem cells and cancer // Cell Signal. 2014. №26. P. 570–579.
9. Okafor P.N., Lien C., Bairdain S., Simonson D.C., Halperin F., Vernon A.H., Linden B.C., Lautz D.B. Effect of vagotomy during Roux-en-Y gastric bypass surgery on weight loss outcomes // Obesity Res Clin Pract. 2015. № 9. P. 274–280.
10. Olbe L. Therapeutic applications of vagotomy // Yale J Biol Med. 1994. № 67. P. 153–157.
11. Shaw D., Gohil K., Basson M.D. Intestinal mucosal atrophy and adaptation // World J Gastroenterol. 2012. № 18. P. 6357–6375.
12. Singh A., Balint J.A., Edmonds R.H., Rodgers J.B. Adaptive changes of the rat small intestine in response to a high fat diet // Biochim Biophys Acta. 1972. № 260. P. 708–715.
13. Xie W., Chen S., Strong J.A., Li A.L., Lewkowich I.P., Zhang J.M. Localized sympathectomy reduces mechanical hypersensitivity by restoring normal immune homeostasis in rat models of inflammatory pain // J Neurosci. 2016. № 36. P. 8712–8125.

References

1. Agadzhanova LS, Romyanceva TA. Reakciya holinehsterazapozitivnyh neyronov intramural'nyh ganglijev pri razlichnyh modelyah denervacii [Reaction of neurons to cholinesterases intramu-RAL ganglia in different models of denervation]. Morfologiya. 2016;3:9. Russian.
2. Nozdrachev AD, Polyakov EL. Anatomiya krysy [Anatomy of the rat]. Sankt-Peterburg: Izdatel'stvo «Lan'»; 2001. Russian.
3. Dumont P, Denoyer A, Robin P. Long-term results of thoracoscopic sympathectomy for hyperhidrosis. Ann Thorac Surg 2004;78:1801-7.
4. Ferraris RP, Vinnakota RR. Intestinal nutrient transport in genetically obese mice. Am J Clin Nutr 1995;62:540-6.
5. Girish G, D'Souza RE, D'Souza P, Lewis MG, Baker DM. Role of surgical thoracic sympathetic interruption in treatment of facial blushing: a systematic review. Postgrad Med. 2017;129:267-75.
6. Hashmonai M, Cameron AEP, Licht PB, Hensman C, Schick CH. Thoracic sympathectomy: a review of current indications. Surg Endosc. 2016;30:1255-69.
7. Koopman FA, Stoof SP, Straub RH, Van Maanen MA, Vervoordeldonk MJ, Tak PP. Restoring the balance of the autonomic nervous system as an innovative approach to the treatment of rheumatoid arthritis. Mol Med. 2011;17:937-48.
8. Krausova M, Korinek V. Wnt signaling in adult intestinal stem cells and cancer. Cell Signal. 2014;26:570-9.

9. Okafor PN, Lien C, Bairdain S, Simonson DC, Halperin F, Vernon AH, Linden BC, Lautz DB. Effect of vagotomy during Roux-en-Y gastric bypass surgery on weight loss outcomes. *Obesity Res Clin Pract.* 2015;9:274-80.

10. Olbe L. Therapeutic applications of vagotomy. *Yale J BiolMed.* 1994;67:153-7.

11. Shaw D, Gohil K, Basson MD. Intestinal mucosal atrophy and adaptation. *World J Gastroenterol* 2012;18:6357-75.

12. Singh A, Balint JA, Edmonds RH, Rodgers JB. Adaptive changes of the rat small intestine in response to a high fat diet. *Biochim Biophys Acta.* 1972;260:708-15.

13. Xie W, Chen S, Strong JA, Li AL, Lewkowich IP, Zhang JM. Localized sympathectomy reduces mechanical hypersensitivity by restoring normal immune homeostasis in rat models of inflammatory pain. *J Neurosci.* 2016;36:8712-25.

Библиографическая ссылка:

Агаджанова Л.С., Румянцев Т.А. Активность холинэстеразы в нейронах интрамуральных ганглиев разных отделов желудка крыс при ваготомии // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2018. №4. Публикация 3-7. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-4/3-7.pdf> (дата обращения: 09.07.2018). DOI: 10.24411/2075-4094-2018-16113.*

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-4/e2018-4.pdf>