
УЧАСТИЕ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ И АДРЕНЕРГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В РЕАКЦИЯХ ЖЕЛУДКА НА ВВЕДЕНИЕ ЭКЗОГЕННОГО СЕРОТОНИНА

В.И. Торшин

Кафедра нормальной физиологии
Медицинский факультет
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 10, к. 1, Москва, Россия, 117198

В.М. Смирнов, Д.С. Свешников, А.В. Кучук, И.А. Юрасова

Кафедра нормальной физиологии
Российский государственный медицинский университет
ул. Островитянова, 1, Москва, Россия, 117997

Работа посвящена изучению серотонинергических структур, усиливающих моторику желудка. Опыты поставили на 94 крысах в условиях хирургической стадии наркоза, ИВЛ, двухсторонней ваготомии и двухсторонней перерезки языкоглоточных нервов. Регистрировали механическую активность желудка на введение серотонина адипината у интактных животных и на фоне продолжающегося действия адreno- и холиноблокаторов. Установили, что блокада адreno- и холинорецепторов не только не препятствует, а напротив, способствует проявлению реакций желудка на серотонин, причем блокада β -адренорецепторов увеличивала выраженность стимуляторных эффектов желудка почти на 90%. Сделали вывод о том, что адренергические и холинергические механизмы препятствуют проявлению стимуляторных реакций серотонинореактивных структур на моторику желудка.

Ключевые слова: серотонинреактивные структуры, серотонин, желудок, адренорецепторы, холинорецепторы.

Серотонинергические структуры принимают активное участие в регуляции сокращений желудка. Это показано как в эксперименте на животных, так и в исследованиях на человеке [1, 2, 3, 4].

Серотонин участвует не только в моторной, но и в секреторной деятельности пищеварительного канала [5], а также в других процессах, таких как дифференцировка и пролиферация интерстициальных клеток Кахалы [6, 7], регуляция мигрирующего моторного комплекса [8], что актуально не только для решения фундаментальных проблем физиологии, но и для клиники.

Целью исследования было определить, участвуют ли адreno- и холинергические механизмы в реализации стимуляторного влияния экзогенного серотонина на сокращение желудка.

Материалы и методы. Исследование провели в на крысах линии Вистар, использовали половозрелые лабораторные животные, обоего пола, массой тела 250—450 г, общим количеством 94 шт., полученные из питомника «Филиал Андреевка» РЦБМТ РАМН. Опыты проводили натощак, последний прием пищи животными осуществлялся за 12 часов до эксперимента. В день опыта, в виварии, животных вводили в состояние хирургической стадии наркоза (нембутал 60 мг/кг в/м), после чего крыс в транспортировочном вольере доставляли в лабораторию и по-

мещали на операционный стол. Наркоз был достаточным и протекал без выраженных осложнений на протяжении опыта. Контроль витальных функций в опыте осуществляли регистрацией ЭКГ во втором стандартном отведении.

Во время препаровки срединным разрезом на шее пересекали кожу, выделяли трахею, которую пересекали на $\frac{1}{3}$ длины в области 5 полукольца, куда вводили интубационную трубку, после чего животных переводили на ИВЛ. Тупым способом разделяли фасции шеи, отпрепаровывая правый и левый сосудисто-нервный пучки, под которые подводили лигатуры. Блуждающие и языкоглоточные нервы перевязывались максимально близко к нижней челюсти, затем пересекались дистальные концы блуждающих нервов длиной 12—15 мм, закрепленные на лигатурах, которые для предотвращения высыхания обкладывали марлевыми салфетками, смоченными физиологическим раствором. Правую общую сонную артерию выделяли на протяжении 10—15 мм. Для предотвращения ретроградного кровотечения дистальную часть артерии перевязывали также максимально близко к нижней челюсти, а затем, отступив ниже на 8—10 мм, на артерию накладывали атравматический серфин. Глазными ножницами сосуд пересекали поперечно на $\frac{1}{3}$ ширины, в разрез по направлению к серфину вводили тefлоновый катетер диаметром 0,3 мм, который, для предотвращения тромбообразования, предварительно в течение 24 ч замачивали в растворе гепарина. Катетер, предназначенный для введения препаратов, герметично закрепляли с помощью лигатур, его ответную часть подсоединяли к дозирующей системе и снимали серфин. В ходе эксперимента через катетер осуществляли введение 0,9% NaCl и растворов серотонина. Объем однократного введения не превышал 0,25 мл, что соответствовало систолическому объему желудочка крысы [9]. Инфузию препаратов осуществляли в течение 30 с, что соответствовало 150—180 сокращениям сердца животного. Такие параметры введения уменьшали риск развития повреждений полулунных клапанов и нарушений гемодинамики, связанных с нагрузкой объемом, обеспечивая доставку препарата в область дуги аорты.

О сократительной деятельности желудка судили по показателям внутриполостного давления. Для налаживания записи этих показателей давления брюшную полость вскрывали срединным лапаротомным разрезом, в кардиальном отделе точечным разрезом вскрывали желудок, в этот разрез в направлении к пилорусу вводили миниатюрный катетер с баллончиком из латексной резины на конце, катетер фиксировали к разрезу кисетным швом, баллончик заполняли стандартным объемом (0,1 мл) теплой (37 °C) дистиллированной воды, напряжения стенок баллончика и деформаций при этом не возникало. Катетер соединяли с манометрическим датчиком серии DC ASDXAVX001PG7A5 0—50 мм вод. ст. (Honeywell, США), снабженным встроенным усилителем и механизмом термокомпенсации.

По завершении препаровки рана передней брюшной стенки ушивалась, на другие раны накладывали окклюзионный покров для сохранения тканей в естественном функциональном состоянии. Исследование моторики начинали не ранее чем через 45 мин. после закрытия раны брюшной полости, что обеспечивало стабилизацию деятельности органа.

Сигналы от датчика давления и и ЭКГ одновременно и независимо друг от друга поступали на два канала аналого-цифрового преобразователя MacLab 8e (Adin-

struments, Австралия), компьютера Macintosh Performa 6400/180 и программы Chart 4.2.3, благодаря которой вели регистрацию и обсчитывали усредненные показатели внутриполостного давления.

Адрено- и холиноблокаторы вводили в подкожную клетчатку конечностей в равной для каждого препарата дозе 1 мг/кг. Использовали М-холиноблокатор гиосцина бутилбромид, ганглиоблокатор пентамин, α -адреноблокатор доксазозин, β -адреноблокатор пропранолол. В ходе экспериментов, с целью подтверждения блокады холинорецепторов, выполняли контрольные раздражения периферического отрезка правого блуждающего нерва прямоугольными импульсами 0,1 мА, 10 Гц, 1,5 мс. Отсутствие реакции желудка свидетельствовало о надежной блокаде холинорецепторов. Длительный период полувыведения всех перечисленных препаратов гарантировал надежность блокады на протяжении всего опыта, которые длились 45—60 мин.

При статистическом анализе использовали проверку нормальности распределения количественных признаков по критерию Колмогорова—Смирнова, степень достоверности оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента в зависимой и независимой выборках. Обработка данных в зависимой выборке предусматривала анализ типа «до и после воздействия», а в независимой выборке обрабатывались данные прироста давления на серотонин у интактных животных на фоне адрено- и холиноблокаторов. Статистическую обработку данных производили с помощью бесплатной компьютерной программы Plainstat для MacOS X. Критическое значение уровня значимости принималось равным 5% ($p < 0,05$).

Результаты исследования. На первом этапе изучили эффекты действия самого серотонина, который вводили в дозе 0,1 мг/кг 94 животным без каких-либо других фармакологических препаратов, кроме наркоза. В данной группе лишь у двух животных была выявлена слабая тормозная реакция, после чего их вывели из дальнейших опытов. У 92 животных выявили стимуляторные ответы: гидростатическое давление в полости желудка возрастало с $10,96 \pm 2,23$ до $13,84 \pm 3,09$ мм рт. ст. (26,3%, $p < 0,05$).

Возможную роль α -адренорецепторов в реализации стимуляторных эффектов серотонина исследовали в опытах на 16 животных. Серотонин в дозе 0,1 мг/кг вводили на фоне продолжающегося действия α -адреноблокатора доксазозина. В начале изучили воздействие препарата на параметры фонового давления. В указанной дозе препарат не оказывал существенного воздействия на моторику: в среднем, до введения препарата фоновые показатели гидростатического давления составляли $12,34 \pm 1,26$ мм рт. ст., после введения доксазозина — $12,02 \pm 2,34$ мм рт. ст. ($p > 0,05$).

Спустя 10 минут исследовали 16 реакций желудка на введение серотонина в дозе 0,1 мг/кг. У всех животных отмечалось усиление моторики: гидростатическое давление в полости желудка возрастало с $12,02 \pm 2,34$ до $19,43 \pm 1,14$ мм рт. ст. (62%, $p < 0,05$). Продолжительность реакций составила $178,24 \pm 76,3$ с.

Предполагаемую роль β -адренорецепторов в реализации стимуляторных эффектов серотонина изучали в отдельной серии на 20 животных. Серотонин

(0,1 мг/кг) вводили на фоне продолжающегося действия β -адреноблокатора пропранолола. Как и в предыдущей серии, изучили воздействие пропранолола на параметры фонового давления. В указанной дозе препарат изменял фоновые показатели моторики: до введения пропранолола они составляли $10,03 \pm 2,02$ мм рт. ст. и $0,55 \pm 0,16$ мВ, после введения пропранолола — $13,47 \pm 1,74$ мм рт. ст., $1,23 \pm 0,15$ мВ (34% $p < 0,05$). Полученные нами данные согласуются с результатами исследований других авторов [10], изучавших эффекты доксазозина и пропранолола на деятельность желудочно-кишечного тракта крысы.

Спустя 10 минут исследовали 20 реакций желудка на введение серотонина в дозе 0,1 мг/кг. У всех животных отмечалось усиление моторики: гидростатическое давление в полости желудка возрастало с $13,47 \pm 1,74$ мм рт. ст., до $25,43 \pm 4,14$ мм рт. ст. (89%, $p < 0,05$). Продолжительность реакций составила $240,12 \pm 38,11$ с, что было выше, чем у интактных животных. Итоговые данные по изучению роли α - и β -адренорецепторов в реализации стимуляторных эффектов серотонина представлены в табл. 1.

Таблица 1

Прирост гидростатического давления в желудке, вызванный введением серотонина* (0,1 мг/кг) на фоне действия адрено- и холиноблокаторов

Препарат	Фон до введения препаратов (мм рт. ст.)	Введение блокаторов (мм рт. ст.)	Результат на введение серотонина (мм рт. ст.)	Прирост гидростатического давления, %
Доксазозин — α -адреноблокатор	$12,34 \pm 1,26$	$12,02 \pm 2,34$ $p > 0,05$	$19,43 \pm 1,14$ $p < 0,05$	62
Пропранолол — β -адреноблокатор	$10,03 \pm 2,02$	$13,47 \pm 1,74$ $p < 0,05$	$25,43 \pm 4,14$ $p < 0,05$	89
Пентамин — N-холиноблокатор	$10,23 \pm 2,32$	$13,52 \pm 2,14$ $p < 0,05$	$18,9 \pm 1,67$ $p < 0,05$	40
Бускопан — M-холиноблокатор	$10,9 \pm 2,9$	$11,02 \pm 1,92$ $p > 0,05$	$17,24 \pm 2,26$ $p < 0,05$	56

Примечание. *Введение серотонина интактным животным сопровождалось увеличением внутриполостного давления с $10,96 \pm 2,23$ до $13,84 \pm 3,09$ мм рт. ст. (26,3%, $p < 0,05$).

На следующем этапе изучили возможную роль холинергических механизмов в реализации стимуляторных эффектов серотонина на 56 животных. Как и в предшествующих сериях с блокаторами адренорецепторов, вначале изучили влияние ганглиоблокатора пентамина на фоновую моторику. Пентамин, который вводили 30 животным, изменял фоновые механические и электрические показатели моторики: до введения препарата они составляли $10,23 \pm 2,32$ мм рт. ст., после введения — $13,52 \pm 2,14$ мм рт. ст. (32%, $p < 0,05$), появлялись регулярные спонтанные сокращения.

Придерживаясь стандартной схемы, спустя 10 минут после инъекции ганглиоблокатора, вводили серотонин. У всех 30 животных наблюдались стимуляторные ответы: гидростатическое давление в полости желудка возрастало с $13,52 \pm 2,14$ до $18,9 \pm 1,67$ мм рт. ст. (40%, $p < 0,05$), что превышало показатели внутриполостного давления на серотонин.

С целью изучения роли М-холинорецепторов в реализации стимуляторных влияний, вызываемых серотонином, на 26 крысах поставили эксперименты с М-холиноблокатором бускопаном. Как и в предшествующих опытах с ганглиоблокаторами, вначале изучили влияние самого бускопана на фоновую моторику, а затем, спустя 10 минут, животным вводили серотонин в дозе 0,1 мг/кг. Бускопан в дозе 1 мг/кг не оказывал заметного влияния на моторику желудка — уровень гидростатического давления практически не менялся: до момента его введения давление составляло $10,9 \pm 2,9$ мм рт. ст., спустя 10 минут после инъекции — $11,02 \pm 1,92$ мм рт. ст. Выбор такой дозы препарата, по данным литературы, способствовал эффективной блокаде вагусных эфферентов [10], что подтверждали с помощью контрольных раздражений периферического отрезка правого блуждающего нерва.

Далее, в этом же опыте, на фоне продолжающегося действия бускопана вводили серотонин (0,1 мг/кг). У всех 26 животных получены стимуляторные реакции: гидростатическое давление возрастало с $11,02 \pm 1,92$ мм рт. ст. до $17,24 \pm 2,26$ мм рт. ст. (56%, $p < 0,05$). Продолжительность стимуляторных реакций составляла $205,78 \pm 32,11$ с, что было выше, чем у интактных животных.

Суммарные показатели прироста давления в желудке по результатам данной серии см. в табл. 1.

Выводы. Результаты всех серий опытов с блокадой адрено- и холинорецепторов и введением серотонина на фоне их действия показали, что стимуляторный эффект серотонина значительно превосходит таковой при его введении интактным животным. Адреноблокаторы в большей степени способствуют проявлению стимуляторных реакций, что необходимо учитывать при назначении препаратов серотонина в клинике. В целом холинергические и адренергические механизмы препятствуют деятельности серотонинореактивных структур, регулирующих моторную активность желудка.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Thumshirn M., Fraehauf H., Stutz B. et al.* Clinical trial: Effects of tegaserod on gastric motor and sensory function in patients with functional dyspepsia // *Alim Pharmacol Ther.* — 2007. — Vol. 26. — № 10. — P. 1399—1407.
- [2] *Komada T.* Pharmacological characterization of 5-hydroxytryptamine — receptor subtypes in circular muscle from the rat stomach // *Biol Pharm Bull.* — 2007. — Vol. 30. — N 3. — P. 508—513.
- [3] *Лазебник Л.Б., Лычкова А.Э., Хомерики С.Г.* Функционально-морфологическая организация вегетативной иннервации желудка // *Успехи физиол. наук.* — 2008. — Т. 39. — № 2. — С. 58—76.
- [4] *Смирнов В.М., Мясников И.Л., Свешиников Д.С.* Исследования механизма усиления сокращений желудка возникающих при раздражении симпатического ствола // *Бюлл. эксперим. биологии и медицины.* — 1994. — № 10. — С. 355—359.
- [5] *Gershon M.D., Tack J.* The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders // *Gastroenterology.* — 2007. — V. 132. — № 1. — P. 397—414.

- [6] *Wouters M.M., Farrugia G., Schemann M.* 5-HT receptors on interstitial cells of Cajal, smooth muscle and enteric nerves // *Neurogastroenterol Motil.* — 2007. — V. 19. — Suppl. 2. — P. 5—12.
- [7] *Glatzle J., Sternini C., Robin C. et al.* Expression of 5-HT₃ receptors in the rat gastrointestinal tract // *Gastroenterology.* — 2002. — Jul; 123(1). — P. 217—226.
- [8] *Janssen P., Vos R., Tack J.* The influence of citalopram on interdigestive gastrointestinal motility in man // *Aliment Pharmacol Ther.* — 2010. — № 2. — P. 289—295.
- [9] *Suleyman H., Dursun H., Bilici M. et al.* Relation of adrenergic receptors, which have roles in gastroprotective and anti-inflammatory effect of adrenal gland hormones, with cyclooxygenase enzyme levels in rats // *J Physiol Pharmacol.* — 2009. — Vol. 60. — № 4. — P. 129—134.
- [10] *Soares P.P., Porto C.S., Abdalla F.M. et al.* Effects of rat sinoaortic denervation on the vagal responsiveness and expression of muscarinic acetylcholine receptors // *J Cardiovasc Pharmacol.* — 2006. — Vol. 47. — N 3. — P. 331—336.

PARTICIPATION OF CHOLINERGIC AND ADRENERGIC MECHANISMS IN GASTRIC REACTIONS TO EXOGENOUS SEROTONIN INFUSION

V.I. Torshin

Department of Normal Physiology
Medical Faculty
Russian Peoples' Friendship University
Mikukho-Maklaya str., 10-1, Moscow, Russia, 117198

V.M. Smirnov, D.S. Sveshnikov, A.V. Kuchuk,

I.A. Yurasova

Department of Normal Physiology
Russian State Medical University
Ostrovityanova str., 1, Moscow, Russia, 117997

This study is dedicated to investigation of serotonergic structures that activate motility of the stomach. Experiments were performed on 94 Wistar rats under general anesthesia, mechanical ventilation, bilateral vagotomy and transection of both glossopharyngeal nerves. Mechanical activity of the stomach was recorded during serotonin adipanate infusion to intact animals and on the background of the ongoing actions of cholinergic and adrenergic antagonists. The blockade of adrenergic and cholinergic receptors does not prevent, but contrary, increase stimulatory effect of serotonin. β -adrenergic blockade increases the intensity of observed reactions almost up to 90%. Conclusion: both adrenergic and cholinergic mechanisms provide inhibitory pattern on serotonergic structures that regulates motor function of the stomach.

Key words: serotonergic structures, serotonin, stomach, adrenergic, cholinergic receptors.