МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Кафедра нормальной физиологии Российского Государственного
Медицинского Университета

На правах рукописи

04.2.01 250292

УДК 61:57

Трубецкая Мария Алексеевна

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ РАЗНЫХ ТИПОВ СЕРОТОНИНОРЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ МОТОРИКИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ В НОРМЕ И ПРИ РАЗВИТИИ ЦЕЛИАКИИ

03.03.01 – физиология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ
профессор, д.б.н., к.м.н Смирнов В.М.
НАУЧНЫЙ КОНСУЛЬТАНТ
профессор, д.м.н. Лычкова А.Э.

Москва – 2011

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений 4

Введение 5

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Структурно-функциональная характеристика вегетативной нервной системы 10

1.1.1 Парасимпатическая нервная система 10

1.1.2 Симпатическая нервная система 11

1.2 Доказательства наличия серотонинергической иннервации двенадцатиперстной кишки 18

1.3 Влияние серотонина на моторику кишечника 22

1.4 Серотонин и серотонинорецепторы 24

1.5 Сопряжение возбуждения и сокращения гладких мышц 29

1.6 Целиакия 33

Глава 2. Материалы и методы

2.1 Объект и объем исследования 35

2.2 Методика исследования 35

2.3 Оборудование 38

2.4 Методы статистического анализа полученных результатов 39

2.5 Фармакологические препараты 39

Глава 3. Результаты собственных исследований

3.1 Выбор способа введения серотонина и схема опыта 44

3.2 Изучение влияния различных доз серотонина на моторику двенадцатиперстной кишки 44

3.3 Исследование роли адрено- и холинергических механизмов в осуществлении действия серотонина 53
3.3.1 Опыты с одновременной блокадой α- и β-адренорецепторов и N- и M-холинорецепторов 53
3.3.2 Исследование роли адренорецепторов в реализации стимуляторных эффектов серотонина 55
3.3.3 Изучение участия N-холинорецепторов в осуществлении влияния серотонина 62
3.3.4 Изучение роли M-холинорецепторов в осуществлении влияния серотонина 64
3.4 Исследование локализации различных типов 5HT-рецепторов в ганглиях и на гладкомышечных клетках 67
3.4.1 Опыты с миансерином – блокатором $5HT_{1D}$, $5HT_{2A}$, $5HT_{2C}$, $5HT_3$, $5HT_6$, $5HT_7$-рецепторов и α-адренорецепторов 68
3.4.2 Эксперименты с NAS-181 – блокатором $5HT_{1b}$-рецепторов 69
3.4.3. Эксперименты с SB 204741 – блокатором $5HT_{2b}$-рецепторов 71
3.4.4 Опыты с MDL 72222 – блокатором $5HT_3$-рецепторов 74
3.4.5 Опыты с RS 39604 – блокатором $5HT_4$-рецепторов 75
3.5 Роль серотонина в развитии экспериментальной модели синдрома целиакии 77

Глава 4. Обсуждение результатов 82

Выводы 102

Литература 104

Сокращения

5-НТ – серотонин (5-гидрокситриптофан)

5-$НТ_{1,2,3,4,5,6,7}$ – серотониновые рецепторы 1-7 типа

АД – артериальное давление

АХ – ацетилхолин

ВНС – вегетативная нервная система

ДПК – двенадцатиперстная кишка

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

КА – катехоламины

МГ – механограмма

МОК – минутный объем крови

НА – норадреналин

ОПСС – общее периферическое сосудистое сопротивление

СС – симпатический ствол

ЦНС – центральная нервная система

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЭМА – электромоторная активность

ЭМГ - электромиограмма

ЕС - энтерохромаффинные клетки

SERT – серотонинтранспортер

VIP – вазоинтестинальный пептид

Введение

Актуальность. Изучение вегетативной регуляции функций пищеварительного тракта имеет большое теоретическое и практическое значение. Нарушение этой регуляции может приводить к развитию ряда тяжелых патологических процессов. Так, избыточная выработка соляной кислоты способствует развитию кислотозависимых заболеваний, в том числе, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки; недостаточная выработка соляной кислоты ведет к ухудшению переваривания белков, нарушению моторной функции желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), которые приводят к развитию мальабсорбции, развитию синдрома избыточного бактериального роста и интоксикации организма. Общеизвестно, что парасимпатические (холинергические) нервы стимулируют моторику и секрецию ЖКТ, а симпатические (адренергические) тормозят их (Агаджанян Н.Ф., Смирнов В.М., 2007; Кромин А.А., 2001; Покровский В.М., Коротько Г.Ф., 2002, 2005). В то же время обнаружены и противоположные влияния симпатического и парасимпатического нервов. Так, раздражение симпатического нерва может вызвать не только торможение, но в некоторых условиях и усиление сокращений ЖКТ (Смирнов В.М. и др., 2008; Delbro D., Lisander B., 1980; Lerman S.H. et al., 1982). Возбуждающее влияние чревных нервов на моторику ЖКТ лучше выявляется в условиях действия симпатолитиков (Уткина Р.В., 1957) и на фоне покоя органа (Бехтерев В.М., Миславский Н.Л., 1888-1889; Van Harn C., 1963).

В настоящее время существует представление (Андрианов В.В., Бадиков В.И., 2008; Покровский В.М., Коротько Г.Ф., 2005; Ткаченко Б.И., 2005) о зависимости ответной реакции органа от исходного функционального фона и силы раздражения нерва, но оно нуждается в уточнении.

Результаты многолетних исследований В.М. Смирнова (1989, 1990) показали, что двоякое влияние нерва при его раздражении определяется не

исходным состоянием органа или силой раздражения нерва, а наличием в составе нерва нервных волокон различной медиаторной природы: в составе парасимпатического нерва - симпатических волокон, в составе симпатического нерва - парасимпатических волокон.

Кроме того, при изучении механизмов регуляции сокращений двенадцатиперстной кишки было обнаружено, что раздражение симпатического нерва в грудной полости у собак вызывает чаще (65% случаев), не торможение, а усиление сокращений двенадцатиперстной кишки. Были получены убедительные доказательства наличия в составе большого чревного (симпатического, адренергического) нерва серотонинергических нервных волокон, усиливающих сокращения двенадцатиперстной кишки. Причем, количество серотонинергических волокон в составе симпатического нерва, согласно гистохимическим исследованиям, в несколько раз больше, чем адренергических (Смирнов В.М., Волынцева С.Ф., 1995; Смирнов В.М., Мясников И.Л., Свешников Д.С., 2008).

Доказав наличие серотонинергических волокон в составе симпатических нервов (Смирнов В.М., Свешников Д.С., Мясников И.Л., Лычкова А.Э., 1994-2008 гг.), авторы не уточнили, с каким типом серотонинорецепторов образуют синаптические контакты преганглионарные волокна, с каким - постганглионарные нервные волокна. Другие исследователи (Zifa E., Fillion G., 1992; Watts S., Cox D., 1994) свои эксперименты выполняли на полосках кишечной стенки, причем не учитывали наличие серотонинергических нервов в организме, поскольку о существовании этих нервов указанные авторы не подозревали.

Для подтверждения наличия серотонинергической нервной системы в организме и более глубокого изучения ее функций необходимо выяснить, вызывает ли экзогенный серотонин такие же двигательные реакции двенадцатиперстной кишки, как и раздражение серотонинергического нерва. Кроме того, необходимо выяснить, выключается ли действие серотонина на

двенадцатиперстную кишку теми же блокаторами, которые выключают стимуляторное влияние на двенадцатиперстную кишку серотонинергического нерва.

Цель исследования – определить локализации различных типов 5-HT-рецепторов в вегетативных ганглиях и на гладких мышцах двенадцатиперстной кишки для решения вопроса о структурно-функциональной организации серотонинергического нерва, усиливающего сокращения двенадцатиперстной кишки; выяснить роль серотонина в развитии экспериментальной модели синдрома целиакии.

Задачи исследования.

1. Определить, какая доза экзогенного серотонина является оптимальной для изучения механизмов регуляции сокращений двенадцатиперстной кишки.

2. Выяснить, вызывает ли экзогенный серотонин такие же моторные реакции двенадцатиперстной кишки, как и раздражение серотонинергического нерва.

3. Установить, участвуют ли адрено- и холинергические механизмы в реализации стимуляторного влияния серотонина на сокращения двенадцатиперстной кишки.

4. Исследовать роль разных типов нейронных и гладкомышечных серотонинорецепторов в усилении сокращений двенадцатиперстной кишки.

5. Изучить возможную роль серотонина в развитии экспериментальной модели синдрома целиакии.

Научная новизна. Впервые изучена структурно-функциональная организация эфферентного отдела вегетативной нервной системы, посредством которой осуществляется стимуляторное влияние серотонина на моторную

функцию двенадцатиперстной кишки. Установлено, с помощью какого типа серотонинорецепторов на нейронах вегетативных ганглиев образуют синапсы преганглионарные серотонинергические нервные волокна, и с какими эффекторными рецепторами гладкомышечных волокон двенадцатиперстной кишки образуют синапсы постганглионарных серотонинергических волокон. Обнаружено, что экзогенный серотонин вызывает такие же стимуляторные эффекты двенадцатиперстной кишки, как и раздражение серотонинергического нерва. Показано также, что адренергические и холинергические механизмы не участвуют в реализации стимулирующего действия серотонина на двенадцатиперстную кишку. На основании проведенного исследования и литературных данных установлено, что на мембранах ганглионарных нейронов локализуются 5-HT_1- и 5-HT_3- и 5-HT_4-рецепторы, на мышечных клетках - 5-HT_2-рецепторы.

Научно-практическое значение работы.

Получены данные о локализации серотонинорецепторов различных типов на нейронах вегетативных ганглиев и на гладких мышцах двенадцатиперстной кишки, которые могут быть основой для проведения подобных исследований на других органах.

Результаты наших исследований могут послужить также основой и для разработки новых фармакологических препаратов для использования их в лечебно-профилактической деятельности врачей. Установлено, что развитие модели синдрома целиакии сопровождается снижением электромоторной активности кишки и морфологическими изменениями слизистой оболочки кишки, характерными для целиакии. Показано, что серотонин препятствует повреждающему действию пикрилсульфоновой кислоты на протяжении первых 10-ти суток от начала моделирования и ускоряет развитие репаративных процессов.

Практические рекомендации. Обнаруженный нами феномен более выраженного усиления сокращения кишки с помощью серотонина при введении его в организм в условиях блокады β-адренорецепторов необходимо учитывать при проведении дальнейших исследований. Полученные нами данные могут быть использованы фармакологами и клиницистами при проведении комплексных исследований по разработке препаратов серотонина пролонгированного действия и использования его в клинических условиях.

Глава 1 . Обзор литературы

1.1 Структурно-функциональная характеристика вегетативной нервной системы

1.1.1 Парасимпатическая нервная система.

Роль блуждающих нервов как стимуляторов моторики двенадцатиперстной кишки установлена в опытах с их перерезкой, при этом, как правило, наблюдалось угнетение или полное прекращение сокращения двенадцатиперстной кишки на некоторый период времени, а также в экспериментах с раздражением блуждающего нерва, приводящим к увеличению содержания ацетилхолина в стенке двенадцатиперстной кишки и усилению ее двигательной активности (Smith A.B.et al., 2000).

В межмышечном сплетении кишечника обнаружены возбуждающие и тормозные нейроны, причем, и те, и другие получают парасимпатическую иннервацию; парасимпатические волокна заканчиваются перицеллюлярными аппаратами на клетках Догеля I типа (Ноздрачев А.Д. и др., 1997).

В вегетативных ганглиях синаптическую передачу обеспечивает ацетилхолин, взаимодействующий с N-холинорецепторами нейронов вегетативных ганглиев. В ганглиях выявлены также М-холинорецепторы, которые выполняют модулирующую роль в синаптической передаче посредством подпороговой деполяризации мембран ганглионарных нейронов (Ito C. et al., 1989; Dujic Z. et al., 1990; Goldstein B., 2001). Причем М-холинорецепторы активируются эндогенным ацетилхолином. Из пяти подтипов мускариновых рецепторов в тонкой кишке картированы М1, М2- и М3-рецепторы (Wallis R.M., Napier C.M., 1999).

По мнению ряда исследователей (Протас Л.Л., 1991; Bramich N.J. et al., 2000), ацетилхолин, высвобождаемый холинергическими терминалями, имеет

ограниченный доступ к мускариновым рецепторам, связанным с калиевыми каналами, благодаря высокоэффективной деятельности холинэстеразы.

1.1.2. Симпатическая нервная система.

ЖКТ иннервируется чревными нервами, симпатическими волокнами, содержащимися как в шейном, так и в других (поддиафрагмальном) отделах блуждающего нерва (Климов П.К., Барашкова Г.М., 1991; Yokotani K. et al., 1992), волокнами, проходящими по селезеночной и левожелудочной артериями, а также – адренергическими нейронами интрамурального нервного аппарата (Hunyady B. et al., 2000). Симпатические нервы оказывают тормозное влияние на моторику ЖКТ (Szurszewski J.H. et al, 2003).

Показано, что в симпатических стволах, иннервирующих ЖКТ кошки, имеются холинергические и адренергические волокна. В преганглионарных нервах преобладают холинергические, в постганглионарных - адренергические волокна. Большая часть постганглионарных симпатических волокон контролирует моторику кишечника посредством конвергенции на интрамуральные нейроны (в ганглиях межмышечного сплетения); меньшая часть волокон оканчивается непосредственно на гладких мышцах. Симпатические нервы обычно тормозят моторику желудочно-кишечного тракта, что осуществляется с помощью α- и β-адренорецепторов. Тормозное действие на моторную функцию двенадцатиперстной кишки и кишечника овец более выражено со стороны β-рецепторов; возможно, именно моноаминергический контроль определяет частоту потенциалов действия пейсмейкера двенадцатиперстной кишки (Ayali A. et al, 1999).

В ганглиях вегетативной нервной системы имеются холинергические и хромаффинные клетки (Chiba T. et al, 1989; Wanigasekara Y. et al., 2003). Холинергические нейроны обнаружены в поясничных симпатических узлах (Joo F., 1974, 1996), в узлах солнечного и каудального брыжеечного сплетения (Joo F., 1996). Адреналин блокирует проведение возбуждения в ганглиях так же,

как обнаруженный в них норадреналин (Akiyama T., 2000). Его источником являются хромаффинные клетки, вставочные нейроны и преганглионарные волокна, содержащие норадреналин. Кроме того, катехоламины могут выделяться под влиянием эндогенного ацетилхолина, высвобождающегося самим ганглием во время его возбуждения, и экзогенного ацетилхолина. Периферические рефлексы, осуществляемые с помощью экстраорганных ганглиев, протекают при обязательном участии холинергических и адренергических нейронов. Первые являются пусковыми, вторые – модулирующими (Taxi J., 1995, 1998; Smith P.G. et al., 2002).

Интрамуральные сплетения разных отделов пищевода, желудка, тонкой и толстой кишок содержат большое количество симпатических нервных волокон и их терминалей, что обнаружено с помощью люминесцентной методики. Значительная их часть имеет связь с холинергическими нейронами. Выявлены также адренергические нейроны, расположенные в ганглиях мышечного и подслизистого сплетений, отростки которых иннервируют гладкие мышцы и образуют синаптические контакты с неадренергическими нервными клетками. Среди адренергических клеток есть и интернейроны - клетки 3-го типа (Амвросьев А.П., 1977; Крохина Е.М. с соавт., 1975).

По мнению J.B. Furness с соавт. (1971), адренергические нейроны составляют, по мнению всего лишь 1-2% от всех клеток толстого кишечника и редко встречаются в тонком кишечнике и в желудке морских свинок. Позднее J.B. Furness с соавт. (2000) обнаружили эти нейроны в продольной мышце тонкой кишки морской свинки. По мнению N. Yuyama с соавт. (2002) адренергические нейроны ЖКТ морской свинки имеют в качестве преганглионарных волокон чревные и подчревные нервы и осуществляют тоническое тормозное влияние на орган. Адренергические волокна желудка заполняют ганглии, окружая со всех сторон отдельные его нейроны и формируя синаптические контакты транзиторного и конечного типа. Соединения конечного типа, как показано электронномикроскопически, являются аксо-

соматическими и аксо-дендритическими. Эти адренергические нейроны рассматриваются как третий нейрон симпатического эфферентного пути. Адренергическое управление работой клеток интрамуральных ганглиев хорошо развито у млекопитающих (Windscheif U. et al., 1995; Hirafuji M. et al., 1998).

Вегетативной нервной системе присуще облегчение передачи возбуждения в нервно-мышечных синапсах за счет увеличения высвобождения медиатора на каждый импульс при повторных редких раздражениях. Так, при раздражении нерва током низкой частоты (2-16 Гц) или при естественной импульсации содержание НА в окончаниях не уменьшается, а увеличивается высвобождение его на каждый импульс: более высокая частота стимуляции уменьшает выход НА.

Удаление синаптического НА осуществляется несколькими путями: основным механизмом является обратное поглощение НА нервными окончаниями (и в меньшей степени – гладкомышечными клетками). Кроме того, происходит расщепление НА моноаминооксидазой и катехолоксиметилтрансферазой, а также диффузия медиатора в сосудистое русло. Инактивация ацетилхолина осуществляется, главным образом, ацетилхолинэстеразой, возможна и диффузия медиатора в окружающее пространство (Смирнов В.М., Лычкова А.Э., 2001; Peronnet F. et al., 1993).

Основными медиаторами в постганглионарных окончаниях симпатических нервов являются норадреналин и, в меньшей мере, адреналин. При этом катехоламины действуют на адренорецепторы, которые по фармакологическим свойствам подразделяются на несколько видов α- и β-адренорецепторов (Wahlund G. et al., 1990; Ortiz de Urbina A.V. et al. 1992; Takei M. et al.,1992; Westby J. et al., 1992; Flesch M. et al., 2001):

α_1-рецепторы – опосредуют возбуждение и сокращение гладких мышц;

α_2-рецепторы – опосредуют торможение гладких мышц (их расположение – на пресинаптических нервных терминалях);

β_1 – адренорецепторы – опосредуют стимуляторное влияние КА на сердце, тормозное – на гладкие мышцы желудочно-кишечного тракта и, возможно, липолитический эффект КА;

β_2–адренорецепторы – опосредуют вазодилятацию, бронходилятацию, понижение тонуса гладких мышц матки и гликогенолиз в скелетных мышцах.

В исследованиях, проведенных на гладких мышцах, было показано, что предварительное введение катехоламинов или серотонина увеличивает сокращение гладких мышц при действии ацетилхолина. Функции адренорецепторов и серотонинорецепторов на эффекторном органе однотипны и включают образование циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) (Katz A.M., 1998) и инозитол-3-фосфата. Ацетилхолин реализует свое влияние на эффектор, повышая концентрацию циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) (Климов П.К., 1991; Opie L.H., 1978) и инозитол-3-фосфата. Эти циклические нуклеотиды выполняют роль вторичных мессенджеров и влияют на различные метаболические процессы в клетке в ответ на активацию холинорецепторов, адренорецепторов и серотонинорецепторов.

При анализе данных литературы следует обратить внимание на морфологические и функциональные особенности симпатических ганглиев. Эфферентные волокна образуют синаптические контакты на SIF-клетках. Различают два вида этих контактов - содержащие в аксонных терминалях мелкие светлые пузырьки (холинергические) и гранулярные пузырьки (катехоламинсодержащие). В количественном отношении синапсы со светлыми пузырьками в десятки раз преобладают над синапсами с гранулярными везикулами. На мембранах SIF-клеток находятся М-холинорецепторы (Prud'homme M.J. et al., 1999). В SIF-клетках верхнего шейного ганглия были обнаружены катехоламины и серотонин (Heppener T.J. et al., 1996). Показано, что клетки с этими веществами сгруппированы в различных участках ганглия и имеют морфологические различия; предполагается существование нескольких типов энтерохромаффинных клеток: серотонин-, норадреналин- и

дофаминсодержащих (Verhofstad A.A.J., 1981), а также пептид-содержащих (Tanaka K., 1996; Lee K.J. et al., 2008, 2009, 2010). Фармакологический анализ медиаторных веществ в этих клетках не выявил нарушений синтеза медиатора под влиянием симпатолитиков (Арчакова Л.И., 1980), однако, синтез медиатора блокируется галоперидолом (Hatip-al-Khatib I., 2002). SIF-клетки могут играть определенную роль в механизме рефлекторной регуляции деятельности висцеральных органов. Не исключено, что они могут осуществлять эндокринную функцию (Yuan W., 1995).

Таким образом, разнообразие рецепторных структур на мембранах SIF-клеток дает возможность предполагать активацию этих структур различными нейромедиаторами, в том числе, дофамином, серотонином.

Помимо тормозного, симпатический нерв (в частности, большой чревный) может оказывать и стимуляторное влияние на двигательную активность ЖКТ. В середине XIX в. Пфлюгер (1857, цит. по Богач П.Г, 1974) обнаружил, что раздражение большого чревного нерва может вызвать не только торможение, но иногда и усиление сокращений ЖКТ. Позже это подтвердили и другие авторы (Delbro D. et al, 1980). Однако убедительного объяснения механизмов осуществления этого феномена до настоящего времени не было, имелось лишь несколько гипотез.

По мнению К. Кен-Куре (1935) данный феномен возникает вследствие возбуждения парасимпатических волокон заднекорешкового происхождения. К аналогичным выводам пришли J. Gillespie и B. MacKenna (1961), которые предположили, что причиной усиления моторной активности кишки, возникающего при раздражении симпатического нерва на фоне действия резерпина, является возбуждение холинергических волокон блуждающего нерва, которые проходят в брыжейке.

Серьезное подкрепление гипотез вышеуказанных авторов принесли результаты исследований D. Delbro и B. Lisander (1980), которые регистрировали баллонографическим методом моторику желудка у

адреналэктомированных кошек и выявили, что электрическое раздражение большого чревного нерва усиливало или ослабляло тоническое сокращение органа. Возбуждающие эффекты наблюдались, как правило, при более интенсивных и низких по частоте (1-5 Гц) раздражениях. Эти эффекты блокировались атропином (0,1-1 мг/кг) и не выключались двусторонней ваготомией. Гексаметоний (5-100 мг/кг) и гуанетидин (3,3-20 мг/кг) трансформировали тормозные эффекты в возбуждающие. В части этих экспериментов вместо электрического раздражения применяли нагревание чревного нерва до 46°С (достигая избирательной активации волокон А-дельта и С) и получали аналогичные результаты. Авторы пришли к заключению, что стимуляторные реакции являются результатом активации тонких афферентных волокон по механизму аксон-рефлекса, функциональное значение волокон неясно.

В работе этих авторов (Delbro D. et al., 1981) выявлены аналогичные волокна и в составе блуждающего нерва. Их афферентная природа была доказана путем селективного раздражения при нагревании, причем стимулирующее действие вагуса на моторику желудка кошки сохранялось и при введении гексаметония, но блокировалось атропином. L. Fandriks, D. Delbro (1983) в аналогичных опытах на толстой кишке выявили наличие афферентных волокон в составе поясничного чревного нерва, антидромное селективное возбуждение которых усиливало спонтанные сокращения толстой кишки. Было высказано предположение, оставшееся недоказанным, что вещество Р - возможный нейропередатчик, опосредующий эти сокращения.

В опытах на собаках E. Bathon с соавт. (1980) получал стимуляторные реакции желудка при электрической стимуляции периферического отрезка левого чревного нерва, опыт проводился в условиях двусторонней шейной ваготомии, резерпинизации, или при совместном действии α- и β-адреноблокаторов. При раздражении нерва на фоне действия ганглиоблокатора

гексония моторные реакции желудка ослабевали, а при введении атропина они полностью снимались.

Y. Nakazato с соавт. (1970) предположили, что тонические сокращения желудка, возникающие при раздражении чревных и периартериальных нервов, являются результатом активации холинергических механизмов и α-адренергических рецепторов.

Опыты, проведенные М.Ф. Шуба с соавт. (1980), свидетельствуют о возможности симпатического возбуждения моторики ЖКТ с помощью α-адренорецепторов гладких мышц. Известно, что полипептид пчелиного яда апомин блокирует пуринергическую и адренергическую тормозную синаптическую передачу в мышцах, а также предотвращает гиперполяризущее действие на гладкие мышцы норадреналина и АТФ. В присутствии апомина гладкомышечные клетки кишечника в ответ на интрамуральное раздражение генерируют ВПСП вместо ТПСП, устойчивые к блокаторам ацетилхолина, норадреналина, серотонина. В этих условиях АТФ и норадреналин (но не адреналин) вызывают деполяризацию мышечных клеток вместо гиперполяризации. При этом, норадреналиновая деполяризация, как и гиперполяризация в отсутствии апомина, блокируются фентоламином. Данные исследования согласуются с открытием постсинаптических α_1-рецепторов.

Сокращение гладких мышц может вызвать гистамин, выделяющийся из окончаний постганглионарных симпатических волокон (Глебов Р.Н.с соавт., 1978); это не исключает возможности участия данного медиатора в осуществлении исследуемых эффектов, полученных при раздражении симпатического ствола.

Приведенные данные литературы могут свидетельствовать о том, что симпатические постганглионарные волокна чревного нерва при определенных условиях могут не только тормозить, но и стимулировать двигательную активность ЖКТ.

Усиление сокращений желудка, возникающее при раздражении большого чревного нерва, по мнению В.М. Смирнова и др. (1986), осуществляется с помощью серотонинергических нервных волокон, имеющихся в составе симпатических стволов. Более глубокое исследование механизмов усиления сокращений двенадцатиперстной кишки, возникающих при раздражении симпатического нерва В.М. Смирнов и соавт. выполнили в 1986 – 2008 гг.

1.2. Доказательства наличия серотонинергической иннервации двенадцатиперстной кишки

Из литературных источников известно, что действие серотонина весьма разнообразно. Серотонин облегчает высвобождение нейромедиатора холинергическими нервными терминалями, оказывает стимулирующее влияние на вегетативные ганглии (Moran A. et al., 1994) посредством взаимодействия с 5-HT_3-серотонинорецепторами (Nemoto M. et al., 2001) и, в частности, усиливает реакции ганглия на электрическое раздражение преганглионарных нервных волоког, а также на введение ацетилхолина и никотина. T. Iwanaga et al. (1994) считают, что кишечные и уретральные серотонинсодержащие нейроны, являющиеся афферентными, активируют эфферентные пептидергические нейроны. Таким образом, инициируется проведение возбуждения в рефлекторных дугах. Серотонин вызывает деполяризацию в изолированных препаратах шейного и абдоминального отделов блуждающего нерва при активации 5-$HT_{3,4}$-рецепторов (M. Nemoto al., 2001) и посредством активации 5-HT_1-рецепторов угнетает ответные реакции у вагосимпатэктомированных крыс (De Vries P. et al., 1997).

В экспериментальных исследованиях, предпринятых В.М. Смирновым, И.Л. Мясниковым, Д.С. Свешниковым в 1986-1997 гг., обнаружилось, что раздражение СС у собак чаще вызывает не торможение, а усиление сокращений двенадцатиперстной кишки. Возможное участие серотонина в реализации

исследуемого феномена выясняли в экспериментах с применением промедола, блокирующего преимущественно $5HT_{3,4}$-рецепторы вегетативных ганглиев.

Необходимо отметить, что блокада $5HT_{3,4}$-рецепторов вегетативных ганглиев промедолом не только устраняла ярко выраженный стимуляторный ответ кишки на раздражение СС, но вела также к появлению тормозной реакции на раздражение нерва (рис. 1.1).

Появление тормозной реакции при раздражении СС в условиях блокады серотонинорецепторов является важнейшим доказательством того, что в составе СС в грудной полости имеются и хорошо известные тормозные адренергические волокна, и стимулирующие нервные волокна серотонинергической природы. Поскольку при блокаде стимуляторных серотонинергетических нервных волокон хорошо выявляется действие тормозных адренергических волокон, это доказывает, что свои влияния они реализуют независимо друг от друга.

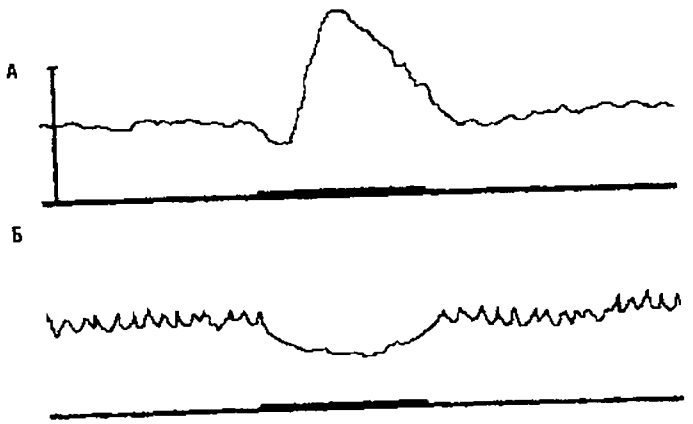

Рис. 1.1. Реакции двенадцатиперстной кишки при раздражении симпатического ствола (10 В, 20 Гц) в различных условиях. А — до введения фармакологических препаратов (вначале слабое торможение); Б — на фоне действия промедола — блокатора $5HT_{3,4}$-рецепторов. На каждом фрагменте — запись давления в полости кишки и нулевая линия, она же (более жирная часть линии) отметка раздражения — 30 с. Шкала — 20 мм рт. ст. для всех фрагментов.

Таким образом, блокада $5HT_{3,4}$-рецепторов, локализующихся преимущественно на нейронах вегетативных ганглиев, устраняет

стимуляторный эффект раздражения СС независимо от того, являются ли адренергические механизмы интактными или заблокированными. По мнению авторов (Смирнов В.М., Мясников И.Л., Свешников Д.С., 1986, 1994, 1997) это означает, что стимуляторный феномен реализуется с помощью преганглионарных серотонинергических нервных волокон, синаптически связанных посредством $5HT_{3,4}$–рецепторов с ганглионарными нейронами, возбуждение которых ведет к усилению сокращений кишки.

Однако медиаторная природа ганглионарных нейронов оставалась неизвестной. Тогда же В.М. Смирнов и соавт. (1986, 1987) высказали предположение, что и они являются серотонинергическими. Для исследования природы постганглионарных нервных структур, с помощью которых осуществляется стимуляторный эффект, авторы применили лизергол – блокатор $5HT_{1,2}$-рецепторов, локализующихся преимущественно на гладкомышечных клетках кишечной стенки.

Результаты проведенных исследований (В.М. Смирнов, И.Л. Мясников, Д.С. Свешников, 2008) показали, что ярко выраженное усиление сокращений двенадцатиперстной кишки, которое возникало при раздражении СС на фоне совместного действия блокаторов α- и β-аденорецепторов (фентоламина и пропранолола соответственно), резко снижалось, а у значительной части животных даже полностью устранялось, после введения лизергола.

Следует отметить, что введение лизергола не оказывало существенного влияния на фоновую моторную активность двенадцатиперстной кишки и, следовательно, результаты фармакологического анализа являются убедительными. Лизергол не влиял и на функцию блуждающего нерва: его раздражение сопровождались, как обычно, усилением сокращений кишки, что доказывает нехолинергическое происхождение стимуляторного эффекта и является дополнительным подтверждением серотонинергической природы изучаемого феномена.

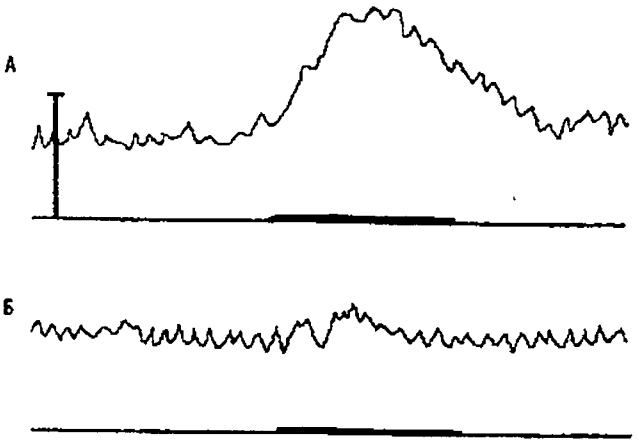

Рис. 1.2. Реакции двенадцатиперстной кишки на раздражение симпатического ствола (10 В, 20 Гц) в различных условиях. А — на фоне действия α- и β-блокаторов фентоламина и пропранолола; Б — на фоне совместного действия адреноблокаторов и лизергола — блокатора $5HT_{1,2}$-рецепторов. На каждом фрагменте — запись давления в полости кишки и нулевая линия, она же (более жирная часть линии) отметка раздражения — 30 с. Шкала — 20 мм рт. ст. для обоих фрагментов.

Результаты экспериментов с применением лизергола (Смирнов В.М. с соавт., 1999) свидетельствуют о том, что эффекторный нейрон, с помощью которого реализуется стимуляторный феномен, является серотонинергическим, его влияния осуществляются с помощью $5HT_{1.2}$ – рецепторов, локализующихся, по мнению авторов, преимущественно на гладких мышцах.

Ещё раз подчеркнем, что функция адренергических нервных волокон при блокаде ганглионарных ($5HT_{3.4}$) серотонинорецепторов не нарушается. Важно подчеркнуть также, что и функция блуждающего нерва, стимулирующего сокращение желудка и кишки, как показали результаты специальных экспериментов, не нарушается при полной блокаде серотонинергических и адренергических влияний (Смирнов В.М. с соавт., 1986; Смирнов В.М., Мясников И.Л., Свешников Д.С., 1994; Смирнов В.М., Свешников Д.С., Берсенева Е.А., 1999).

Заключение авторов о серотонинергическом механизме описанного стимуляторного эффекта косвенно подтверждается результатами биохимических (методика Оксенкруга – Смирнов В.М., 1986) и гистохимических исследований, с помощью которых в СС был обнаружен

серотонин (методика Фалька – Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной – Смирнов В.М., Волынцева С.Ф., 1995). Другими авторами (Lin A.S.H. et al., 2006) с помощью электрофизиологических методик зарегистрировал медленные ВПСП в нейронах энтеральной нервной системы, вызванные серотонином. Эти ВПСП обеспечивают длительные серии спайковых разрядов и являются основой моторной активности кишки.

1.3. Влияние серотонина на моторику кишечника

Различные авторы исследовали действие эндо- и экзогенного серотонина на моторику кишечника.

Интересные данные о влиянии серотонина на моторику тонкой кишки получили В.И. Овсянников и Т.П. Березина (2002). Серотонин после внутривенного введения бодрствующим кроликам вызывал фазные изменения сократительной активности двенадцатиперстной, тощей и подвздошной кишок, включающие возбуждающий и тормозной компоненты. По мнению этих авторов, стимуляция моторики тонкой кишки обусловлена активацией серотонином эффекторных холинергических нейронов. Начальное угнетение моторики обусловлено участием неадренергического нехолинергического тормозного механизма, а вторичное торможение сократительной активности тонкой кишки серотонином имеет адренергическую природу.

В противоположность этим данным, в исследованиях на людях получены однозначно четкие результаты (Lordal M. et al, 1998). Авторы изучали моторику тонкой кишки с помощью многоканального манометрического зонда, соединенного с компьютерной системой. Инфузионное введение серотонина в дозе 60 нмоль/мин/кг приводило к более частому и быстрому распространению мигрирующих моторных комплексов в тонкой кишке человека в межпищеварительном периоде. А.В. Завьялов, В.Д. Затолокин, А.П. Симоненков и др. (1999) обнаружили существенное увеличение амплитуды электрической активности гладкой мышцы желудка и

двенадцатиперстной кишки после ваготомии и возрастание их функциональной сопряженности на фоне внутривенного введения серотонина адипината.

В исследованиях С.В. Кузнецова (1998) показано становление серотонинореактивных структур в онтогенезе. Он изучал спонтанную сократительную активность изолированной подвздошной кишки интактных 7-30-суточных крысят при воздействии серотонина и его миотропных и нейротропных антагонистов. Установлено, что с возрастом частота ритмических сокращений увеличивается, а тонических остается неизменной, однако увеличивается выраженность более медленных тонических сокращений. Анализ активности при воздействии серотонина и его антагонистов показал, что характер ритмических сокращений во все сроки исследования зависит преимущественно от нейрогенных влияний. Между 7-ми и 10-ми сутками происходят качественные изменения характера тонической активности при воздействии на серотонинореактивные структуры. Идет становление отрицательного влияния со стороны миогенных структур на тонические сокращения. Существует определенный баланс, меняющийся в онтогенезе, между миогенными и нейрогенными влияниями на активность гладких мышц.

Таким образом, усиление сокращений кишечника при действии экзогенного и эндогенного серотонина, наблюдавшееся в опытах различных авторов (Lordal M. et a., 1998; Miyata K. Et al., 1998; Jin J.G., 1999; Кузнецова С.В., 1998; Завьялова А.В.и др., 1999; Овсянникова В.И.и Березиной Т.П., 2005 и др.) косвенно подтверждает наше представление о наличии серотонинергического нерва, усиливающего сокращения кишки. Серотонинергические нервные волокна, иннервирующие двенадцатиперстную кишку, согласно данным ряда авторов (Смирнов В.М., Клевцов В.А. и др., 1986; Смирнов В.М., Мясников И.Л., Свешников Д.С., 1994; Смирнов В.М., Свешников Д.С., 2004), идут от IX-XII грудных сегментов спинного мозга, проходят в составе большого чревного нерва в брюшную полость, далее образуют синапсы с помощью 5-$HT_{3,4}$ -рецепторов на серотонинергических

нейронах вегетативных ганглиев, из которых выходят постганглионарные серотонинергические волокна. Последние подходят к эффекторным (гладкомышечным) клеткам, образуют с ними синапсы посредством 5-$HT_{1.2}$ - рецепторов, активация которых ведет к возбуждению и сокращению гладких мышц, обеспечивающих усиление двигательной активности двенадцатиперстной кишки. Подобное же анатомическое расположение и строение имеет и серотонинергический нерв, усиливающий сокращения желудка (Смирнов В.М., Мясников И.Л., Свешников Д.С. и др., 2003; Смирнов В.М., Мясников И.Л., Свешников Д.С., Берсенева Е.А. 1999).

1.4. Серотонин и серотонинорецепторы

Серотонин имеет свои рецепторные структуры. Выделяют несколько типов специфических серотонинорецепторов, которые различаются фармакологически и расположены на мембранах эффекторных тканей (5-HT_1, 5-HT_2) и на мембранах ганглиозных образований (5-$HT_{3,4}$ – Moran A.et al.,1994), 5$HT_{4,5}$-рецепторы обнаружены в ЦНС. Установлено наличие не только пост-, но и пресинаптических серотонинорецепторов (Purohit A. et al., 2003).

В тканях выделяют 5-HT_1- и 5-HT_2-серотонинорецепторы и их подтипы - 5-HT_{1D}, 5-HT_{2B} (Choi D.S. et al., 1994), блокаторами которых являются метиотепин, метисергид, суматриптан, 5-OH-DPAT (Erdemoglu A.K., 1996), спиперон, кетансерин, празозин (Zhang L. et al, 1995). Наиболее специфичным блокатором является лизергиновая кислота; активность аминазина, пипольфена меньше активности лизергиновой кислоты примерно в два раза. В ганглиях эффекты серотонина реализуются посредством взаимодействия со специфическими 5$HT_{3,4}$-серотонинорецепторами, блокаторами которых являются дроперидол, тегасерод, трописетрон. Морфин относится к блокаторам конкурентного типа (Толкунов Ю.А., 2007; Leung C.M. et al., 1990). По мнению А.П. Симоненкова и др. (1995), серотонинергическая регуляция играет важнейшую роль в активности гладкомышечных тканей.

Известно, что введение серотонина усиливает моторную функцию гладких мышц ЖКТ (Wallis R.M. et al, 1999). Существует более 15 подтипов серотонинорецепторов, часть из которых участвуют в реализации феномена усиления серотонином двигательной функции двенадцатиперстной кишки. То есть, введение серотонина может сопровождаться прежде всего стимуляторным действием на моторно-эвакуаторную функцию двенадцатиперстной кишки. Однако механизм этого влияния недостаточно известен.

В кишечнике имеются серотонинергические возбуждающие нейроны, которые обусловливают сокращение мышц кишечника в условиях блокады холинергической передачи, и сами выключаются антагонистом серотонина – метисергидом. Медиаторная роль серотонина подтверждается также наличием $5HT_{1,2,3,4}$-рецепторов в органах и тканях (легкие, сосуды, мозг, сердце, мышцы и другие). Однако, помимо участия в передаче нервного импульса, серотонин, поступая в кровь и тканевую жидкость, принимает участие в нейрогуморальной регуляции функций, в том числе и при патологии (Николаева А.А., 1991).

Гистохимической методикой Фалька-Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной в препаратах правого и левого больших чревных нервов (в сравнении с препаратами блуждающих и соматических нервов) В.М. Смирновым и С.Ф. Волынцевой (1995) было показано яркое свечение адренергических и серотонинергических структур. В чревных нервах на светло-сером фоне наблюдаются ярко светящиеся тонкие волокна. Узлы симпатической цепочки излучают очень яркое свечение в голубовато-желтой области спектра. Микрофлуориметрия выявляет наличие там большого количества серотонина. Препараты блуждающего и симпатических нервов светятся значительно слабее. В левом большом чревном нерве содержание серотонина составляло 640-750 усл. ед., а катехоламинов – 40-50 усл. ед., в узлах симпатической цепочки – серотонина 1070-2750 усл. ед., а катехоламинов – 120-180 усл. ед. По мнению авторов, полученные результаты свидетельствуют о том, что в составе

симпатического ствола и большого чревного нерва имеются серотонинергические нервные волокна.

Изучение серотонинергических интернейронов тонкой кишки морской свинки показало наличие в мышечном слое ганглиев, включающих серотонинергические нейроны и нейроны со структурными особенностями клеток Догеля II типа. Каждая из клеток Догеля II типа получила три или меньшее количество серотонинорецепторов (Young H.M. et al., 1995). Иммуногистохимически D. Reiche et al. (2000) показано возрастание количества нисходящих интернейронов в желудке и кишечнике морской свинки, в том числе, 5HT-содержащих.

По мнению K. Taniyama et al. (2000), в желудочно-кишечном тракте существуют серотонинорецепторы четырех типов: $5HT_1$, $5HT_2$, $5HT_3$ и $5HT_4$. В экспериментах на собаках авторы показали, что активация $5HT_4$-рецептора стимулирует кишечную моторную активность. Стимуляция связана с местным увеличением выброса ацетилхолина кишечными холинергическими нейронами. Опосредуемый активацией $5HT_4$–рецептора выброс ацетилхолина наблюдается также в антральном отделе и теле желудка морской свинки. Плотность распределения $5HT_4$-рецепторов в мышечной оболочке кишечника морской свинки выше, чем у человека. Авторы полагают, что $5HT_4$-рецепторы, расположенные в мышечной оболочке кишечника, могут участвовать в моторной активности желудочно-кишечного тракта.

Секреторная активность желудочно-кишечного тракта, как и его моторика, регулируется серотонином (Jin J.G. et al., 1999; Tuladhar B.R. et al., 1999), причем, разнообразие реакций на введение серотонина обусловлено большим количеством подтипов серотониновых рецепторов в ткани кишки (Galligan J.J., 1996) . Первичные афферентные нейроны вагуса имеют на своих терминалях $5HT_{1A}$ и $5HT_3$-рецепторы (Grundy D. et al., 1997; Hillsley K. et al., 1998; Bertrand P.P. et al., 2000). 5-HT-содержащие энтерохромаффинные клетки имеют 5-$HT_{3,4}$-рецепторы (Gebauer A.L. et al., 1993; Racke K. et al., 1996).

Энтерохромаффинные клетки толстой кишки, содержащие серотонин, способны выделять его под влиянием холиномиметиков (Celener D. et al., 1994).

Роль $5HT_3$- и $5HT_4$-рецепторов в регуляции мигрирующего моторного комплекса (Romański K.W., 2009) кишки хорька была исследована в опытах Y. Nakagura et al. (2000). Селективный антагонист $5HT_3$ рецепторов рамосетрон (1-10 мкг/кг) увеличивал интервал антрального моторного комплекса желудка, но оказывал малое влияние на моторику тонкой и толстой кишки. Селективный антагонист $5HT_4$ рецептора SB 204070 не воздействовал на моторную активность кишки. Показано, что $5HT_3$-рецепторы играют ключевую роль в миграции моторного комплекса и у хорьков, и у других млекопитающих, включая людей (Y. Nakagura et al., 2000).

Согласно данным В.М. Смирнова и др. (1999), стимулирующее влияние симпатического ствола на моторику двенадцатиперстной кишки осуществляется посредством активации преганглионарных серотонинергических волокон, передающих возбуждение на интрадуоденальные серотонинергические нейроны Введение серотонина оказывает контрактильное действие на гладкие мышцы двенадцатиперстной и тощей кишки (Hillsley K. et al, 1998; Emre-Aydingoz S.et al.,2001).

Исследование влияния серотонина на желудочно-кишечную миоэлектрическую активность в условиях хронического эксперимента на антральном отделе желудка и двенадцатиперстной кишке овцы с использованием постоянно вживленных электродов показало, что $5\text{-}HT_1$ антагонист метиотепин (0,1мг/кг), $5\text{-}HT_2$ антагонисты – ритансерин (0,1 мг/кг) и кетансерин (0,3 мг/кг), $5\text{-}HT_3$ антагонисты – гранисетрон (0,2 мг/кг) и ондасетрон (0,5 мг/кг), также как $5\text{-}HT_4$ антагонист, GR113808 (0,2 мг/кг), не изменяли спонтанную желудочно-кишечную миоэлектрическую деятельность (Plaza M.A. et al., 1996, 1997). Иммуногистохимическими исследованиями мышечной оболочки антрального отдела желудка и тонкой кишки морской свинки было показано, что в желудке ацетилхолинсодержащие нейроны

составляют 56% всей совокупности нейронов, тогда как серотонинсодержащие – всего 3,9%. В тонкой кишке наблюдаются обратные отношения: холинергические нейроны не столь преобладали, а уровень серотонинсодержащих нейронов был вдвое выше, чем в желудке (Van den Berghe P. et al., 1999). Результаты этого исследования показали, что соотношение ацетилхолин- и серотонинсодержаших нейронов в желудке может свидетельствовать о преобладании холинергической возбуждающей иннервации, тогда как и в двенадцатиперстной кишке – в пользу серотонинергической.

Наряду с дофамином, адреналином и НА в энтерохромаффинных клетках найден серотонин, а на их мембранах обнаружены 5-HT_3-рецепторы (Gebauer A.et al., 1993; Matsumoto S.G. et al., 1993).

Серотонин обнаружен в тканях практически всех видов животных и человека , причем, уровень серотонина сердечной мышцы составляет 30-40% от содержания норадреналина. Серотонин найден и в ткани блуждающего нерва (Глебов Р.Н., Крыжановский Г.Н., 1978; Смирнов В.М., Волынцева С.Ф., 1995). Нейроны узловатого ганглия могут накапливать серотонин (Gandin-Charal G. et al., 1981). Он может накапливаться также и катехоламинсодержащими пузырьками. Захват серотонина, который идет параллельно поглощению норадреналина, определяет концентрацию серотонина в симпатических нервных терминалях.

Изучение энтерохромаффинных клеток (ЕС-клеток) в ЖКТ лошади с помощью иммунофлюоресцентных методов показало, что ЕС-клетки были очень многочисленны в области пилорического отдела, их было немного в двенадцатиперстной кишке, и они абсолютно отсутствовали в более дистальных частях кишки (Ceccarelli P. et al., 1995).

Серотонин-иммунореактивные клетки иммуногистохимически определялись в следующих отделах ЖКТ линейной мыши: фундальный и пилорический отделы желудка, двенадцатиперстная кишка, тощая кишка,

подвздошная кишка, слепая кишка, ободочная кишка и прямая кишка. Было обнаружено, что серотонинсодержащие клетки наблюдались по всему ЖКТ и были преобладающим типом эндокринных клеток (Ku S.K. et al., 2002).

Изучение изменений желудочно-кишечной моторики при введении капсаицина в полость желудка и двенадцатиперстной кишки показало, что в межпищеварительном состоянии капсаицин вызывал сокращения антрального отдела желудка, двенадцатиперстной кишки, проксимального отдела тощей кишки и проксимального отдела ободочной кишки у собак. Эти стимулирующие влияния замедлялись атропином во всех отделах ЖКТ; гексаметонием блокировались в тонкой и ободочной кишке; ондасетроном – в антруме, двенадцатиперстной кишке и ободочной кишке.

Влияние серотонина на желудочно-кишечную миоэлектрическую активность у овцы было зарегистрировано в хроническом опыте посредством имплантированных тензодатчиков. Внутривенное введение серотонина (2, 4 и 8 мкг/кг) по данным M.A. Plaza et al. (1997) вызвало снижение моторики антрального отдела желудка. Возбуждение наблюдалось в антруме и тощей кишке при использовании самых высоких доз серотонина. Атропин и гексаметоний изменяли 5-HT-вызванные эффекты. Результаты исследований показали, что 5-HT_1, 5-HT_2 или 5-HT_3-рецепторы не участвовали в 5-HT-вызванных влияниях, которые опосредуются при активации ганглионарных 5-HT_4 рецепторов (Plaza M.A. et al., 1997).

1.5. Сопряжение возбуждения и сокращения гладких мышц

Гладкие мышцы кишечника имеют спонтанную ритмическую активность, деполяризация мембран клеток происходит под влиянием механического растяжения, электрических импульсов нервных волокон и при других воздействиях. Синхронизация сократительной активности может быть следствием высвобождения медиатора (или баланса медиаторов).

Начало медленной волны связано с развивающейся деполяризацией, при достижении которой величины 5-10 мВ она остается некоторое время постоянной, образуя плато, за которым следует реполяризация и восстановление мембранного потенциала. Существует определенный критический уровень деполяризации с достижением которого на медленной волне появляется быстрый потенциал (спайк). Число таких спайков на гребне медленной волны изменчиво (Богач П.Г. с соавт., 1979; O'Grady G. et al., 2010).

Генерация медленных электрических волн обусловлена спонтанным повышением проницаемости мембран гладкомышечных клеток для ионов натрия (фаза деполяризации) и последующим повышением проницаемости для ионов калия (фаза реполяризации). В случае достижения критического уровня медленной деполяризации мембраны и повышения мембранной проницаемости для ионов кальция возникает группа (пачка) ПД, накладывающихся на медленные электрические волны. Первоначально предполагалось, что генерация медленных электрических волн без ПД не приводит к сокращению гладких мышц желудочно-кишечного тракта. Появление пачек ПД на медленных электрических волнах обусловливает возникновение перистальтических сокращений, продолжительность которых соответствует периодам медленных волн, генерируемых гладкими мышцами в каждом отделе пищеварительного тракта (Кромин А.А., 2001; Huizinga J.D. et al, 2009).

Потенциал действия возникает в наиболее возбудимых участках клеточной мембраны и распространяется на расстояние 0,5-5,0 мм со скоростью 5-10 см/с. При одиночном потенциале действия возникает однофазное сокращение. Серии потенциалов действия сопровождаются сильным сокращением (Климов П.К. с соавт., 1991; Lammers W.J. et al, 2008).

Возбуждающее (деполяризующее) действие ацетилхолина парасимпатической нервной системы на гладкомышечные клетки по своей природе является таким же, как и в клетках других возбудимых тканей: оно связано, в основном, с увеличением натриевой (деполяризация) и калиевой

проницаемости, а также с увеличением кальциевой проницаемости. В зависимости от количества щелевых контактов между гладкомышечными клетками, большинство гладких мышц можно отнести к одному из двух типов: унитарные гладкие, клетки которых функционально связаны в единое целое посредством щелевых контактов, и мультиунитарные гладкие мышцы с индивидуальной иннервацией клеток (Камкин А.Г., Каменский А.А., 2004). Гладкие мышцы ЖКТ относятся к унитарному типу и представляют собой функциональный синцитий. Электрическая и механическая активность осуществляется разными клетками синхронно, то есть на различные стимулы мышца реагирует как единое целое.

В интактном пищеварительном канале человека и животных происходит постоянная спонтанная генерация медленных электрических волн, что создает условия для координированной сократительной деятельности различных отделов ЖКТ. Эти медленные изменения потенциала обозначают различными терминами: электрический ритмический комплекс, основной (базальный) электрический ритм, медленные волны, ритмозадающий потенциал (Lammers W.J. et al, 2008; Romański K.W., 2009).

Ионные механизмы деполяризации изучены не достаточно. Предполагается, что медленные волны могут быть вызваны специализированными клетками, названными интерстициальными клетками Кахаля (Sanders K.M. et al., 1998; Farrugia G., 2007). Фаза плато вызвана входом Ca^{2+} в клетку через каналы L-типа. Реполяризация мембранного потенциала может быть связана с инактивацией Ca^{2+} каналов и (или) активацией K^{+} каналов (Ca^{2+}-зависимых) (Sarna S.K., 2002). Однако при действии на поверхность клетки возбуждающего нейротрансмиттера, например ацетилхолина, при деполяризации медленной волны мембранный потенциал достигает критического уровня деполяризации, и на гребне медленной волны возникают потенциалы действия (спайки) (Буторова Л.И. с соавт., 2001). Максимальная частота ритмических сокращений не может превышать частоту медленных

волн. Необходимо отметить, что при одновременном действии возбуждающего и ингибиторного нейротрансмиттеров на мембрану гладкомышечной клетки возникновение сокращений будет зависеть от суммирования этих противоположных воздействий.

Гладкомышечные клетки связаны с соседними клетками специальными контактами, называемыми межклеточными щелевыми контактами. В этих контактах клетки плотно примыкают друг к другу, что позволяет медленным волнам, генерируемым в смежных клетках, координироваться друг с другом по времени и частоте. Колебания медленных волн в гладкомышечных клетках имеют характеристики релаксационных осцилляторов, поэтому при электрическом соединении между двумя клетками одна из них может изменять частоту и время колебаний другой без изменения своих внутренних характеристик (Sarna S.K., 2003, 2008). Электрические контакты позволяют клеткам с более быстрым ритмом управлять клетками с более медленным ритмом, поэтому зона, в которой преобладает более быстрый ритм, доминирует над остальными и служит водителем ритма. В тонкой кишке медленные волны распространяются в аборальном направлении с понижающимся проксимально-дистальным градиентом частот. Благодаря этому градиенту содержимое кишечника медленно продвигается.

Ритмические сокращения регулируются не только медленными волнами, генерируемыми в слоях гладких мышц, но и энтеральными нейронами, представленными возбуждающими и ингибиторными мотонейронами, интернейронами и сенсорными нейронами. Деятельность энтеральных нейронов может модулироваться центральной нервной системой через парасимпатические и симпатические нейроны, а также посредством эндокринных и паракринных гормонов (Тропская Н.С. с соавт., 2005; Wood J.D., 2008).

Известно нарушение моторно-эвакуаторной функции кишечника при развитии целиакии. Однако, роль серотонина, оказывающего выраженное стимуляторное влияние на гладкие мышцы кишки, в развитии заболевания изучена недостаточно. Не исследована морфологическая картина целиакии в условиях действия серотонина.

1.6. Целиакия

Целиакия - хроническое прогрессирующее заболевание, характеризующееся мальабсорбцией вследствие иммунной агрессии против слизистой оболочки тонкой кишки, триггером которой является употребление в пищу пшеничного глютена у генетически предрасположенных индивидуумов. Большая частота встречаемости целиакии в популяции в настоящее время связывается с увеличением содержания глютена в зерне в результате селекции злаковых культур. Тяжесть заболевания оценивается в зависимости от выраженности синдрома мальабсорбции и продолжительности болезни, а также от степени изменения кишечного микробиоценоза (Парфенов А.И., 2007). Большое значение в патогенезе целиакии имеют нарушения структуры ворсинок кишки, обусловленные нарушением кровоснабжения и иннервации. Поддержание структуры ворсинок на нормальном уровне обеспечивается плотным контактом эпителиоцитов с базальной мембраной с участием протеогликанов и фибронектина. Нарушение иннервации, кровоснабжения, разрушение глюкозаминогликанов, индуцируемое Т-лимфоцитами и продуцируемыми ими цитокинами, приводит к атрофии ворсинок. Цитокины Т-клеток могут влиять на пролиферацию эпителия и повреждать энтероциты, в частности, с помощью γ-интерферона (McDevitt J. et al., 1995).

Серотонин снижает вызванную интерфероном-γ экспрессию макрофага La, активируя серотонинорецептор. Макрофаги способны синтезировать серотонин и захватывать его из экстрацеллюлярной жидкости. Специфический

захват серотонина макрофагами составляет важный элемент регуляции серотонином иммунной функции.

Серотонин модулирует активность Т-, В-, NK-клеток, моноцитов и макрофагов (Young H.M., 1995). Функция серотонина реализуется активацией полиморфной группы мембранных серотонинорецепторов. Лимфоциты человека экспрессируют 5-HT_{1A}-, 5-HT_2-, 5-HT_3-, 5-HT_7-рецепторы (Aune T.M. et al., 1994).

Однако, роль серотонина в реализации моторной функции тонкой кишки в норме и при развитии целиакии изучена недостаточно, что и явилось задачей настоящего исследования.

Таким образом, анализ данных литературы показал, что в организме имеется серотонинергическая нервная система, стимулирующая сокращения двенадцатиперстной кишки (Смирнов В.М., Свешников Д.С., Мясников И.Л., Лычкова А.Э., 1986-2008), но функциональная организация серотонинергического нерва изучена недостаточно.

Глава 2. Материалы и методы

2.1. Объект и объем исследования

Исследование с целью изучения локализации различных типов 5-НТ-рецепторов на нейронах вегетативных ганглиев и на гладких мышцах двенадцатиперстной кишки проводилось в 15 сериях опытов на 240 крысах линии Вистар обоего пола, массой тела 250-350 г. Крысы содержались в виварии РГМУ по 4-6 животных в одной клетке. Опыты проводили в условиях, когда последний прием пищи осуществлялся за 12 часов до эксперимента.

Всего проведено 240 острых опытов на крысах, при этом изучено 350 реакций на введение различных препаратов, из них – 91 на введение серотонина.

Для решения вопроса о роли серотонина в развитии экспериментальной модели синдрома целиакии были проведены также опыты на 15 крысах в условиях хронического эксперимента: 7 крыс с моделью целиакии, 8 крыс – с моделью целиакии в условиях предварительного введения серотонина.

2.2. Методика исследования

Эксперименты проводили в соответствии с требованиями Этического комитета РГМУ в условиях хирургической стадии нембуталового наркоза (40 мг/кг) при исключении болевых ощущений. Животных фиксировали на операционном столе, удаляли шерсть на шее и передней брюшной стенке. На конечности животного накладывали электроды для записи ЭКГ в первом стандартном отведении, контролируя витальные функции.

Для выделения трахеи срединным разрезом на шее рассекали кожу, трахею пересекали на 1/3 длины в области 5-6 полукольца, в дистальном направлении через разрез на глубину 4-5 мм вводили интубационную трубку,

фиксированную лигатурой и соединенную с аппаратом ИВЛ. Тупым способом разделяли фасции шеи, отпрепаровывая правый и левый сосудисто-нервный пучки, под которые подводили лигатуры.

На протяжении 10-15 мм выделяли правую общую сонную артерию. Дистальную часть артерии перевязывали максимально близко к нижней челюсти для предотвращения ретроградного кровотечения, а затем, отступив ниже на 8-10 мм, на артерию накладывали атравматический серфин. Глазными ножницами сосуд пересекали поперечно на 1/3 ширины. В разрез, по направлению к серфину вводили тефлоновый катетер, диаметром 0,3 мм, который предварительно в течение 24 ч замачивали в растворе гепарина для предотвращения тромбообразования.

Катетер, предназначенный для введения препаратов, герметично закрепляли с помощью лигатур, его ответную часть подсоединяли к дозирующей системе и снимали серфин. В катетер вводили 0,05 мл физиологического раствора, убеждаясь в проходимости канала. В ходе эксперимента через катетер осуществляли введение 0,9% NaCl, растворов серотонина и антагонистов - $5HT_{3,4,1,2}$ -серотониновых рецепторов: MDL 72222, RS 39604, миансерина. Объем однократного введения не превышал 0,25 мл, что соответствовало систолическому объему желудочка крысы (Cerutti C. et al, 1991). Инфузию препаратов осуществляли в течение 10-15 с, что соответствовало 60-80 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. Внутриартериальный метод введения, по нашему мнению, позволяет получить такой же быстрый эффект, как и при раздражении нерва. Поэтому серотонин вводили внутриартериально - в общую сонную артерию в направлении к аорте – в непосредственной близости от нее.

Проводили срединную лапаротомию, вскрывали брюшную полость, выводя двенадцатиперстную кишку в операционную рану. Отступив 0,5 см от

пилорического сфинктера в дистальном направлении на крае, противоположном брыжейке, между лигатурами, точечным разрезом стенку кишки вскрывали, вводя в разрез гибкий полиэтиленовый катетер с небольшим (0,1 мл) баллончиком из латексной резины на конце. Катетер с баллончиком проводили дистальнее разреза на 1 см, закрепляя его в области разреза герметичным кисетным швом. Катетер заполняли стандартным объемом (0,15 мл) теплой (37^0C) дистиллированной воды без напряжения стенок баллончика и деформаций кишки. На переднюю поверхность стенки кишки, в проекции баллончика, параллельно продольному мышечному слою, с помощью циакрила приклеивали серебряный биполярный регистрирующий электрод. Далее рана передней брюшной стенки ушивалась, другие раны укрывались окклюзионным покровом для сохранения тканей в естественном функциональном состоянии. Через 45 мин. после закрытия раны брюшной полости начинали исследование моторики кишки.

Длительность экспериментов составляла от 2 до 9 часов. Во время опытов проводился обогрев животного для предупреждения гипотермии. Для поддержания деятельности сердечно-сосудистой системы производилось внутривенное капельное введение раствора Рингера-Локка, реополиглюкина и лазикса.

Экспериментальную модель синдрома целиакии создавали по предложенной А.Э. Лычковой (2009) методике - путем введения 45-50% спиртового раствора пикрилсульфоновой кислоты в полость тонкой кишки. Исследовали ЭМА тонкой кишки до начала моделирования, при изолированном введении пикрилсульфоновой кислоты и при введении пикрилсульфоновой кислоты на фоне действия серотонина; также исследовали ЭМА на 10-е сутки развития синдрома целиакии. Регистрацию ЭМА тонкой кишки осуществляли с помощью биполярных поверхностных электродов площадью контактной поверхности 1,5-2 мм^2 до создания модели, после введения серотонина и пикрилсульфоновой кислоты и на 10-е сутки развития синдрома целиакии.

Регистрацию проводили с использованием многоканального полиграфа. Серотонин вводили в дозе 0,2 мг/кг за 1-4 мин введения пикрилсульфоновой кислоты.

Морфологическое исследование. Биоптаты кишки брали на 10-е сутки развития синдрома целиакии, фиксировали в 10% нейтральном формалине, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заключали в парафин по стандартной методике. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Материал изучали в светооптическом микроскопе при увеличении от 250 до 600.

2.3. Оборудование

С помощью биполярного электрода и усилителя Bio Amp ML132 (Adinstruments, Австралия), соединенного с электродом, регистрировали электрическую активность гладких мышц двенадцатиперстной кишки. После усиления сигналы поступали на четырехканальный аналого-цифровой преобразователь Maclab 8e (Adinstruments, Австралия), соединенный с компьютером Macintosh Performa 6400/180, где с помощью программы Chart 4.2.3 вели регистрацию. Скорость оцифровки для каждого канала составляла 1000 точек/с. Каждый опыт сохранялся в виде отдельного файла. Полученные данные анализировали с помощью встроенного в программу Chart редактора Data Pad. С помощью манометрических датчиков серии DC ASDXAVX001PG7A5 0-50 мм вод. ст. (Honeywell, США), снабженных встроенным усилителем и механизмом термокомпенсации, регистрировали гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки, что позволяло судить о механической активности органа. Датчик, заполненный дистиллированной водой, соединяли с системой калибровочных емкостей и ответной частью катетера, установленного в кишке. Усредненные показатели внутриполостного давления, а также усредненное значение амплитуды

медленных электрических волн продольного мышечного слоя учитывали при обработке полученных данных.

2.4. Методы статистического анализа полученных результатов

При проведении статистического анализа использовались следующие методы: проверка нормальности распределения количественных признаков с использованием критерия Колмогорова-Смирнова и критерия Пирсона; Т-критерий Вилкоксона для связанных выборок и критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни для независимых выборок; Т-критерий Стьюдента. Для оценки статистической значимости различий при сравнении качественных эффектов в парах распределений применяли точный метод Фишера, при сравнении групп по количественному признаку - критерий Манна-Уитни для независимых выборок. Статистическую обработку данных, построение графиков производили с помощью компьютерных программ StatPlus и Plainstat для Макинтош. Статистически достоверными считались значения $p \leq 0,05$.

Изучение механизмов влияния серотонина на ЭМГ двенадцатиперстной кишки проводили по усилению моторики гладких мышц двенадцатиперстной кишки, по увеличению амплитуды (мВ) медленных волн ЭМГ.

2.5. Фармакологические препараты

В исследовании использовали следующие фармакологические препараты и агенты:

Серотонина адипинат: Serotonini adipinas, (5-гидрокситриптамина адипинат), 3-(2-аминоэтил)-1гидро-5-индолола адипинат) $C_{16}H_{21}N_2O_4$. Производитель: ЗАО Лорр, Россия. Относится к группе гемостатиков и серотонинергических средств. Состав и форма выпуска: раствор для

внутривенного и внутримышечного введения 1% 1 мл серотонина адипинат 10 г, вспомогательные вещества: унитиол — 1,5 г; вода для инъекций — до 1 л в ампулах по 1 мл. Фармакологическое действие - серотонинергическое.

Серотонин способствует нормализации автоматизма и сократительной активности гладкой мускулатуры внутренних органов (эндогенной вазомоторики, перистальтики) за счет устранения серотониновой недостаточности.

Серотонин - производное индола. Синтезируется из аминокислоты триптофана, которая под влиянием фермента триптофангидроксилазы превращается в 5-гидрокситриптофан, последний же, декарбоксилируясь, превращается в 5-гидрокситриптамин (серотонин). Фермент, катализирующий это последнее превращение, идентичен дофадекарбоксилазе, то есть ферменту, участвующему в синтезе норадреналина.

Разрушение серотонина в тканях происходит путем окислительного дезаминирования под влиянием аминооксидазы, то есть под влиянием того же фермента, который участвует в разрушении норадреналина.

Серотонин оказывает прямое возбуждающее действие на гладкие мышцы сосудов желудочно-кишечного тракта. В опытах препарат применялся в качестве агониста медиатора, который может участвовать в осуществлении исследуемого эффекта. Препарат вводили в дозах 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 мг/кг. Кумулятивным действием не обладает. Распределяется по органам и тканям, сохраняясь в плазме крови в течение 8 ч.

Миансерин: (Mianserin hydrochloride) 1,2,3,4,10,14-гексагидро-2-метилдибензопиразино азепингидрохлорид ($C_{18}H_{20}N_2.HCl$). Производитель: “Tocris bioscience”, Великобритания. Миансерин является антагонистом H_1, 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT_3, 5-HT_6, 5-HT_7, α_1-адренорецепторов, и α_2-адренорецепторов, а также действует как ингибитор обратного захвата норадреналина (Kitazawa T. Et al., 2006). Биологическая активность: обладает седативным и анксиолитическим эффектами, в то время как антагонизм 5-HT_{2A}

и α_1-адренорецепторов препятствует активации внутриклеточной фосфолипазы С, которая, по-видимому представляет собой общую цель различных классов антидепрессантов.

В отличие от большинства трициклических антидепрессантов, практически не проявляет холиноблокирующей активности, не оказывает неблагоприятного влияния на деятельность сердечно-сосудистой системы.

MDL 72222: Химическое название: Тропанил 3,5-дихлорбензоат ($C_{15}H_{17}Cl_2NO_2$). Производитель: “Tocris bioscience”, Великобритания. Биологическая активность: 5-HT_3 блокатор, обладающий модулирующим воздействием на моторику и секрецию в кишке. (Lai Y.C. et al., 2009; Xue L. et al., 2006).

RC 39604 гидрохлорид (1 - [4-амино-5-хлор-2-(3,5-диметоксифенил) метилокси] -3 - [1 - [2-метилсульфанил] этил] пиперидин-4-ил] пропан-1-гидрохлорид ($C_{26}H_{36}ClN_3O_6S{\bullet}HCl$). Производитель: “Roche Bioscience”, Франция. Биологическая активность - мощный и избирательный 5-HT_4 антагонист (Restivo L. Et al., 2008). Оказывает существенное влияние на моторику ЖКТ (Pascual D. Et al., 2003) Кетоновая группа дает RC 39604 относительно длительный период полураспада, что делает его пригодным для исследований in vivo.

Пентамин (Azamethonium bromide) (Метилиминодиэтилен-бис этилдиметиламмония бромид ($C_{13}H_{33}Br_2N_3$).. Производитель: “Дальхимфарм ОАО", Россия. Ганглиоблокирующее средство, блокирует N-холинорецепторы вегетативных ганглиев (симпатических и парасимпатических). Оказывает угнетающее влияние на каротидные клубочки и хромаффинную ткань надпочечников. В больших дозах может блокировать N-холинорецепторы скелетных мышц и ЦНС.

Оказывает гипотензивное, артерио- и венодилатирующее действие. Уменьшает выведение катехоламинов надпочечниками и ослабляет рефлекторные прессорные реакции, что вызывает тахикардию, парез

аккомодации, мидриаз, расширение бронхов, снижение моторики органов ЖКТ и секреции желез, тонуса мочевого пузыря и др. (Машковский М.Д., 2009).

Бускопан (Hyoscine butylbromide) [7(S)-(1-альфа,2-β,4-β,5-альфа,7-β)]-9-Бутил-7-(3-гидрокси-1-оксо- 2-фенилпропокси)-9-метил-3-окса-9-азониятрицикло[3.3.1.$0^{2,4}$]нонана бромид ($C_{21}H_{30}BrNO_4$). Производитель: “Берингер Ингельхайм”, Франция. Фармакологическое действие: М-холиноблокатор. Препарат снижает тонус гладких мышц внутренних органов и их сократительную активность, секрецию пищеварительных желез.

Доксазозин: Doxazosin, (CARDURA) (*RS*)-2-{4-[(2,3-дигидро-1,4-бензодиоксин-2- илл)карбонил]пиперазин-1-ил}-6,7-диметоксиквиназолин-4-амин ($C_{23}H_{25}N_5O_5 \bullet CH_4O_3S$). Производитель: "Pfizer Inc", США. Биологическая активность: α_1-адреноблокатор. Селективный конкурентный блокатор постсинаптических α_1-адренергических рецепторов (сродство к α_1-рецепторам в 600 раз выше, чем к α_2), снижает ОПСС, предупреждает вазоконстрикцию, вызываемую катехоламинами, что в конечном итоге приводит к снижению АД без развития рефлекторной тахикардии. Быстро метаболизируется в печени путем о-деметилирования и гидроксилирования. Выведение из плазмы происходит в 2 фазы. Выводится через кишечник, преимущественно в виде метаболитов (до 65%), 5% – в неизмененном виде; через почки выводится около 10%.

Обзидан: Пропранолол (Propranolol), белый кристаллический порошок. Растворим в воде и спирте. Химическое название : 1-[(1-метилэтил) амино]-3-(1-нафталенилокси)-2-пропанол ($C_{16}H_{21}NO_2$). Производитель: GlaxoSmithKline, Великобритания. Неселективный β-адреноблокатор. Обладает антиангинальным, гипотензивным и антиаритмическим эффектом. Неселективно блокируя β-адренорецепторы (75% β_1- и 25% β_2-адренорецепторов), уменьшает стимулированное катехоламинами образование цАМФ из АТФ, в результате чего снижает внутриклеточное поступление Ca2+, оказывает отрицательное хроно-, дромо-, батмо- и инотропное действие

(урежает ЧСС, угнетает проводимость и возбудимость, снижает сократимость миокарда).

Проксодолол - Бутиламиногидроксипропоксифеноксиметил метилоксадиазол (Butylaminohydroxypropoxyphenoxymethyl methyloxadiazole). Производитель: Био-Фарм, Россия. α- и β-адреноблокатор. Лекарственная форма: 1% раствор для внутривенного введения. Фармакологическое действие: Неселективный альфа- и β-адреноблокатор; оказывает гипотензивное, антиангинальное и антиаритмическое действие, снижает ЧСС, расширяет сосуды, снижает ОПСС и уменьшает МОК (Ольбинская Л.И. с соавт., 2006).

SB 204741 N-(1-метил-1H-индолил-5)-N"-(3-метил-5-изотиазол) мочевина. Производитель: фирма Tocris. Биологическая активность: мощный селективный блокатор 5-HT_{2B}-рецепторов. Доза вводимого препарата составляла 0,1 мг /кг. 5-HT_{2B}-рецепторы играют ключевую роль в развитии стимуляторных реакций, опосредованных серотонином (Borman R.A, et al., 2002).

NAS-181 (2R)-2-[[[3-(4-метилморфолинил)-2H-1-бензопиран-8] оксиметилморфолин диметансульфонат ($C_{19}H_{26}N_2O_{42}CH_3SO_3H$). Производитель: фирма Tocris. Биологическая активность - мощный селективный блокатор 5-HT_{1B}-рецепторов. Доза вводимого препарата составляла 0,1 мг /кг. 5-HT_{1B}-рецепторы вовлечены в процесс адаптации объема ЖКТ к содержимому (De Ponti F. et al., 2003).

Этаминал натрия (Нембутал, Pentobarbital solublte). Действующее вещество - этаминал-натрий: 5-Этил-5-барбитурат ($C_{11}H_{18}N_2O_3$.). Производитель: Ovation Pharmaceuticals, Inc., Мексика. Фармакологическое действие: Снотворное средство. Средство для наркоза у лабораторных животных. Обладает щадящим воздействием на вегетативную нервную систему.

Глава 3. Результаты собственных исследований

3.1. Выбор способа введения серотонина и схема опыта

Подкожные, внутримышечное или внутрибрюшинное и даже внутривенное введение серотонина в наших экспериментах исключались, так как мы должны были получать быстрый эффект, как и при раздражении нерва. Поэтому серотонин вводили внутриартериально - в общую сонную артерию в направлении к аорте – в непосредственной близости от нее.

Схема опыта, как правило, включала: наркотизирование животного, препаровку сосудов, проведение срединной лапаротомии, выделение двенадцатиперстной кишки, налаживание регистрации необходимых для конкретного эксперимента показателей, выявление дозы серотонина, вызывающей повышение внутриполостного давления двенадцатиперстной кишки. Далее производили фармакологический анализ механизмов исследуемого феномена (блокаду ганглионарных и эффекторных рецепторов различными фармакологическими препаратами).

Действие раствора серотонина адипината на моторную активность двенадцатиперстной кишки изучили в двух сериях опытов.

3.2. Изучение влияния различных доз серотонина на моторику двенадцатиперстной кишки

Введение экзогенного серотонина может приводить к активации ганглионарных и эффекторных серотонинорецепторов. Не исключено, что в механизмах развития стимуляторного серотонинергического феномена могут участвовать α- и β-адренорецепторы, M- и N-холинорецепторы. Однако в первую очередь необходимо было изучить зависимость степени выраженности стимуляторного эффекта кишки от дозы серотонина (доза-эффект).

В опытах регистрировали гидростатическое давление в кишке (механограмму, МГ) и электромиограмму (ЭМГ) кишки с помощью биполярных платиновых электродов (более подробно см. методику исследования) (Edwards F.R. et al, 2006). Испытанные дозы серотонина – 0,05, 0,1 и 0,15 мг/кг.

В первой серии экспериментов на 31 крысе было показано, что введение серотонина в дозе 0,05 мг/кг ведет к развитию двух видов реакций двенадцатиперстной кишки: стимуляторных или тормозных реакций, а в части опытов реакции вообще отсутствовали.

В 14 наблюдениях у 7 животных (22,6%) двукратное введение серотонина в дозе 0,05 мг/кг приводило к развитию стимуляторного эффекта (рис. 3.1).

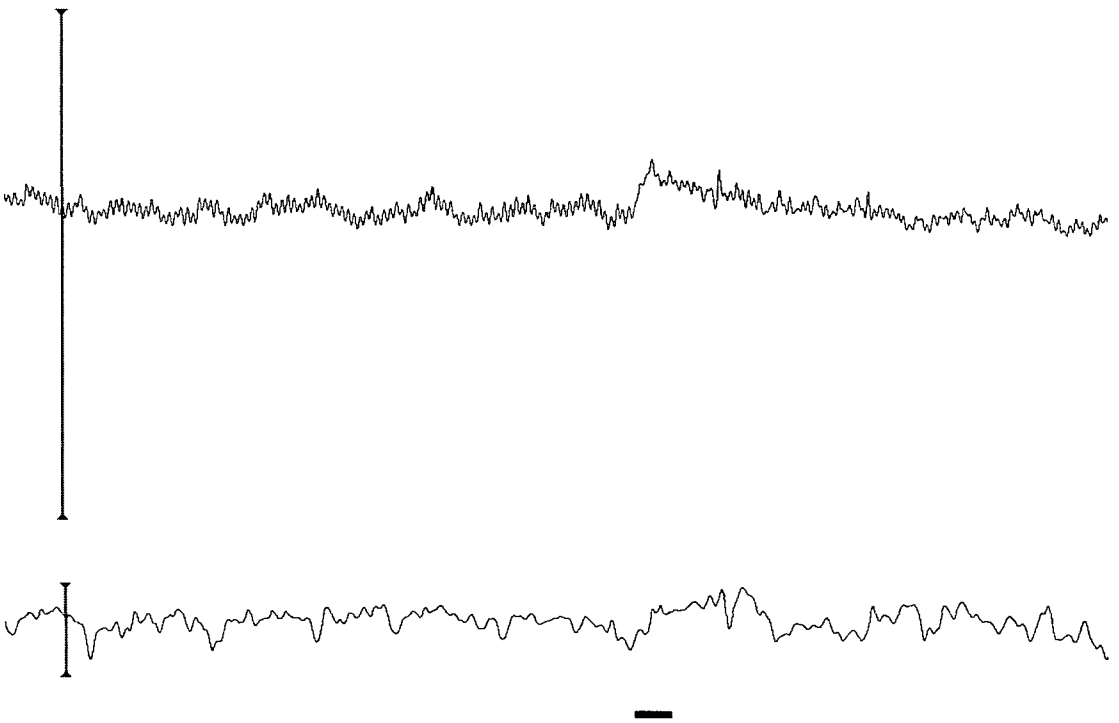

Рис. 3.1. Стимуляторное влияние серотонина (0,05 мг/кг) на моторику двенадцатиперстной кишки. Вверху – механограмма кишки (запись гидростатического давления в ее полости), шкала 15 мм рт. ст.; внизу – электромиограмма (ЭМГ), шкала 1 мВ. Жирная горизонтальная линия – отметка введения серотонина – 30 с.

Величина фонового давления в полости кишки по результатам всей серии составляла 9,74±1,23 мм рт ст. Введение серотонина приводило через 6,38±3,52с к развитию стимуляторного феномена, выражавшегося в повышении

давления в кишке до 12,25±2,11 мм рт ст (25,8%, p<0,05). Продолжительность стимуляторной реакции составляла 150,1±0,03 с. Фоновая амплитуда волн электромиограммы составила 0,71±0,15 мВ. Введение серотонина сопровождалось через 5,11±2,16с развитием стимуляторной реакции в виде увеличения амплитуды волн до 0,93±0,11 мВ (31%, p<0,05) и длительностью стимуляторного феномена 154,33±10,11с (см. рис. 3.1).

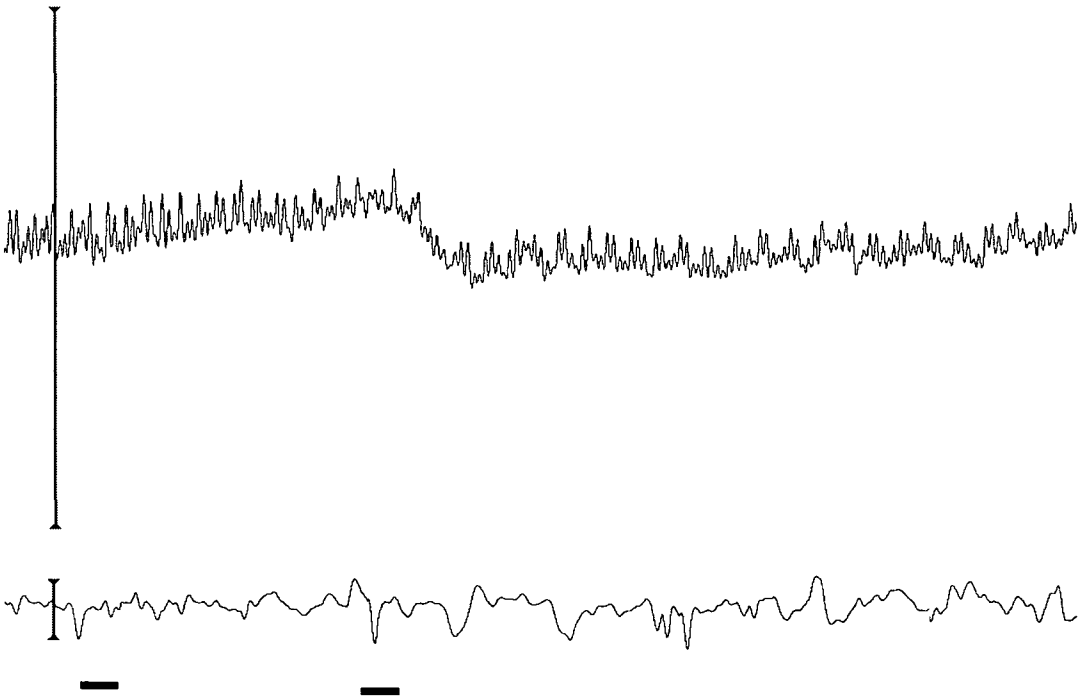

Рис. 3.2. Стимуляторное и тормозное влияние серотонина при двукратном введении препарата в дозе 0,05 мг/кг на моторику двенадцатиперстной кишки. Вверху – механограмма кишки, шкала 15 мм рт. ст.; внизу – ЭМГ, шкала 1 мВ. Жирная горизонтальная линия – отметка введения серотонина – 30 с.

У 9 животных из 31 (29,0%) введение серотонина в дозе 0,05 мг/кг приводило к развитию противоположного - тормозного эффекта. Величина внутриполостного давления через 5,11±3,5 с уменьшилась с 11,1±3,23 мм рт ст. до 8,54±1, 14 мм рт ст (23,1%, p<0,05). Продолжительность тормозной реакции составляла 175,12±14,21 с. Фоновая амплитуда волн ЭМГ составила 0,73±0,23 мВ. Введение серотонина сопровождалось через 4,23±2,17с развитием стимуляторной реакции в виде увеличения амплитуды волн до 0,95±0,14 мВ

(30,1%, $p<0,05$) и длительностью стимуляторного феномена 176,11±8,93 с (рис. 3.2).

В третьей группе (15 животных, 48,4%) введение серотонина в той же дозе (0,05 мг/кг) не приводило к развитию стимуляторного или тормозного влияния на моторную активность двенадцатиперстной кишки. Величина фонового внутрикишечного давления составляла 10,12±2,65 мм рт ст.; введение серотонина практически не изменяло его величину (9,41±1,17 мм рт ст., -7%, $p>0,1$). Фоновая амплитуда волн электромиограммы составила 0,71±0,17 мВ, после введения серотонина она составила 0,75±0,15 мВ ($p>0,1$), (рис. 3.3).

Проведенное исследование показало, что практически у половины животных (15 из 31 крысы) не наблюдалось ни тормозной, ни стимуляторной реакции на введение серотонина в дозе 0,05 мг/кг.

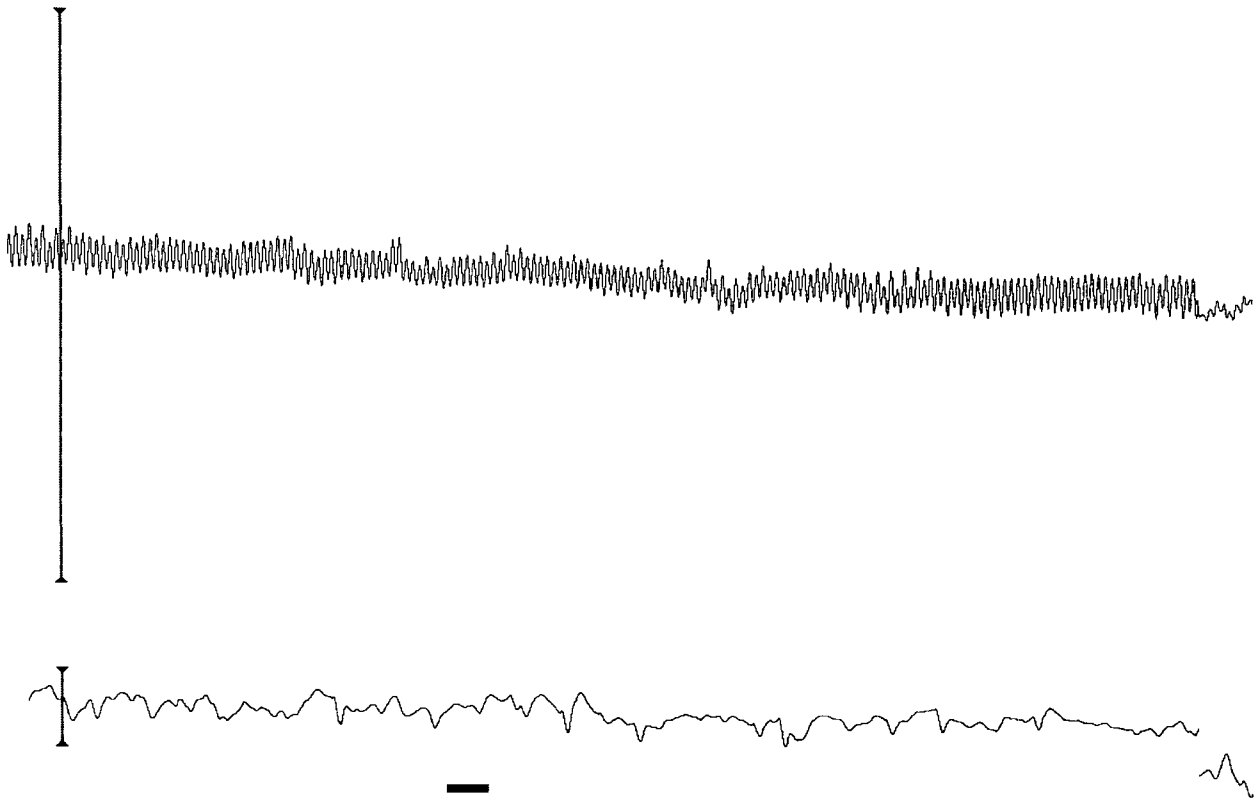

Рис. 3.3. Отсутствие реакции двенадцатиперстной кишки на введение серотонина в дозе 0,05 мг/кг. Вверху – механограмма кишки (гидростатическое давление в ее полости), шкала 15 мм рт. ст.; внизу - электромиограмма (ЭМГ). шкала 1 мВ. Жирные горизонтальные линии – отметки введения серотонина – 30 с.

Таким образом, в первой серии опытов с введением животным серотонина в дозе 0,05 мг/кг наблюдались тормозные и стимуляторные реакции, либо реакция отсутствовала. Полагаем, что тормозная реакция возникла вследствие активации пресинаптических серотонинорецепторов симпатических нервных окончаний, ведущей к высвобождению ими норадреналина, который тормозит сокращения кишки.

Во второй серии экспериментов было показано, что введение серотонина в дозе 0,1 мг/кг в большинстве случаев приводит к развитию стимуляторной реакции двенадцатиперстной кишки.

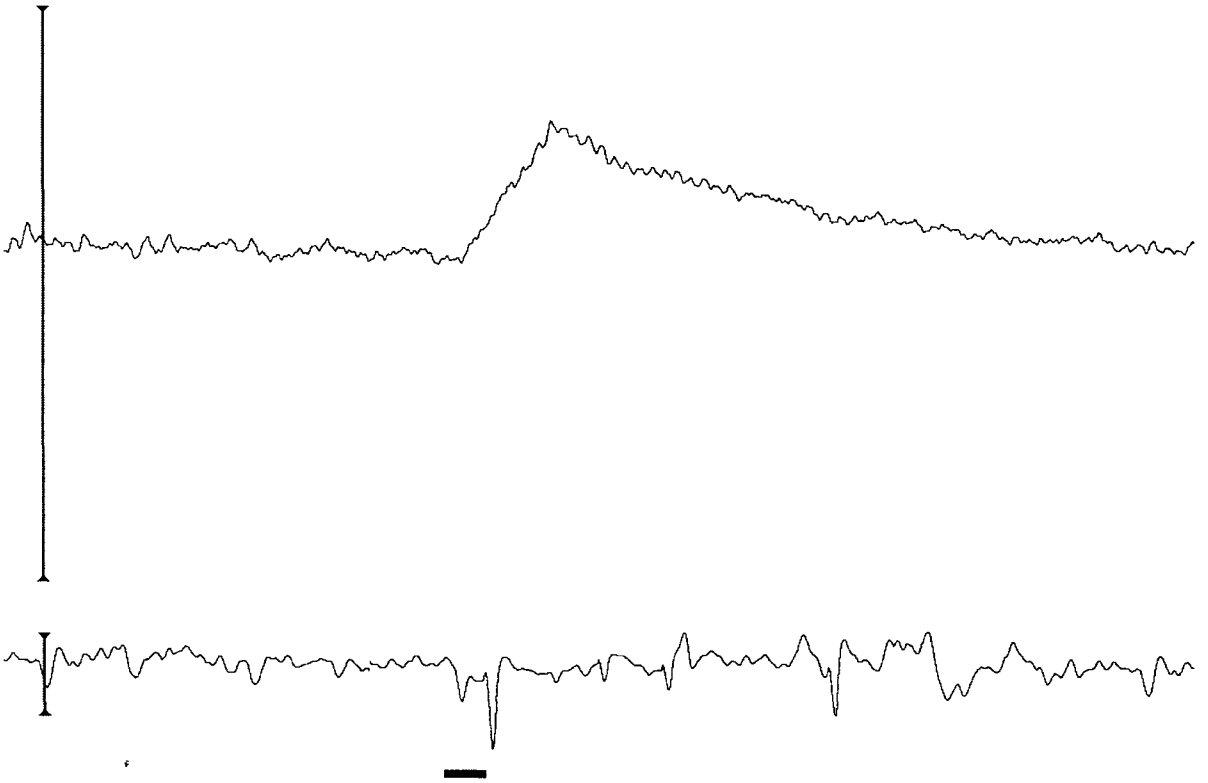

Рис. 3.4. Стимуляторное влияние серотонина в дозе 0,1 мг/кг на моторику двенадцатиперстной кишки (вверху – механограмма кишки), шкала 15 мм рт. ст.; внизу – ЭМГ, шкала 1 мВ. Жирная горизонтальная линия – отметка введения серотонина – 30 с.

В 66 наблюдениях на 23 животных из 36 (63,9%) введение серотонина в дозе 0,1 мг/кг приводило к развитию стимуляторного эффекта. Величина

фонового внутрикишечного давления у этих животных составляла 10,81±1,56 мм рт ст; введение серотонина приводило через 5,14±3,5 с к повышению давления до 13,25±1,58 мм рт ст. (22,6%, $p<0,05$), (рис. 3.4). Продолжительность стимуляторной реакции составляла 185,18±36,2 с. Фоновая амплитуда волн электромиограммы составила 0,71±0,21 мВ; введение серотонина сопровождалось через 4,03±2,1 с увеличением амплитуды волн до 1,5±0,27 мВ (111%, $p<0,01$) и длительностью стимуляторного феномена 190,73±24,19 с (рис. 3.4).

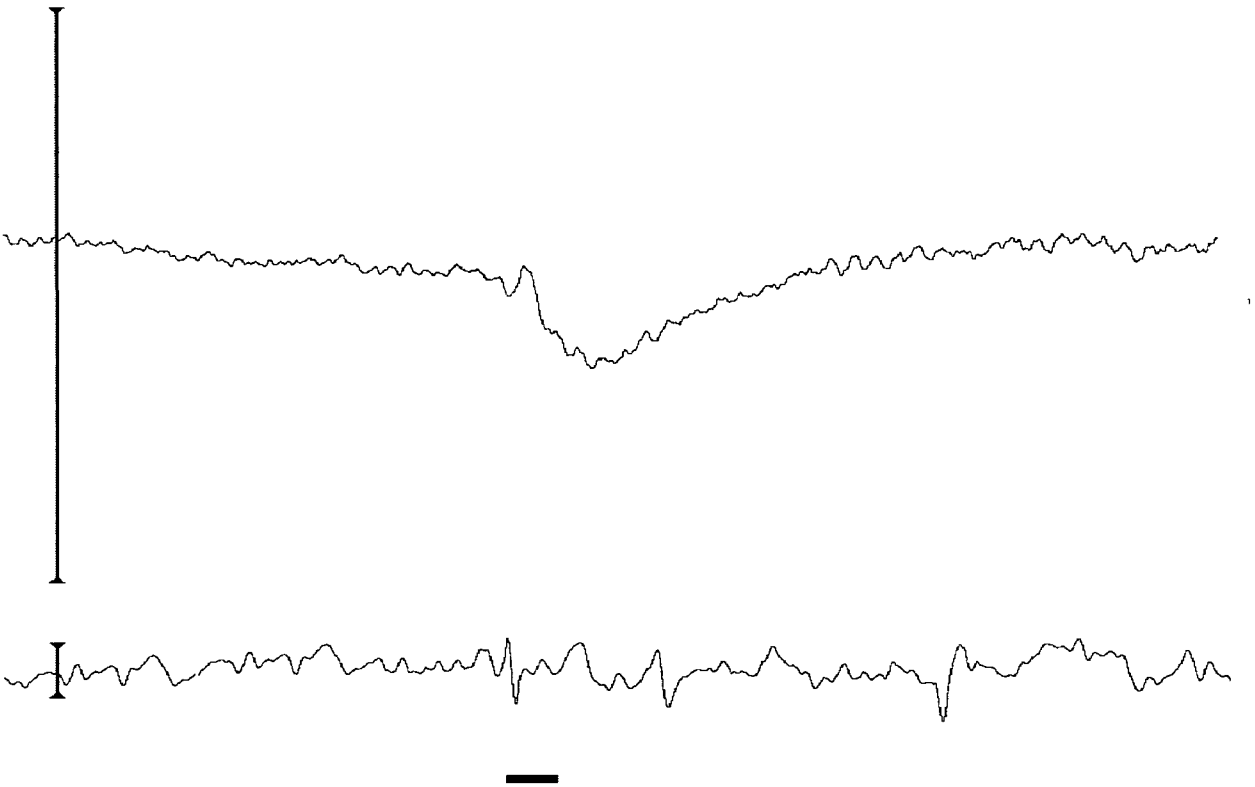

Рис. 3.5. Тормозное влияние серотонина в дозе 0,1 мг/кг на моторику двенадцатиперстной кишки (вверху – механограмма кишки, шкала 15 мм рт. ст.); внизу – ЭМГ, шкала 1 мВ. Жирная горизонтальная линия – отметка введения серотонина – 30 с.

Только в 6 наблюдениях на 3 животных из 36 (8,3%) введение серотонина в дозе 0,1 мг/кг приводило к развитию тормозного эффекта. Величина фонового внутрикишечного давления составляла 10,13±2,23 мм рт ст.,

введение серотонина приводило через 7,51±3,5 с к развитию реакции, выражавшейся в снижении внутрикишечного давления до 7,33±1, 57 (27,6%, p<0,05), (см. табл. 3.1). Продолжительность тормозной реакции составляла 95,12±11,17 с. Фоновая амплитуда волн электромиограммы составила 0,73±0,20 мВ, введение серотонина сопровождалось через 6,23±3,24 с развитием стимуляторной реакции в виде увеличения амплитуды волн до 1,45±0,13 мВ (99,5%, p<0,05) и длительностью феномена 105,22±10,56 с (рис. 3.5).

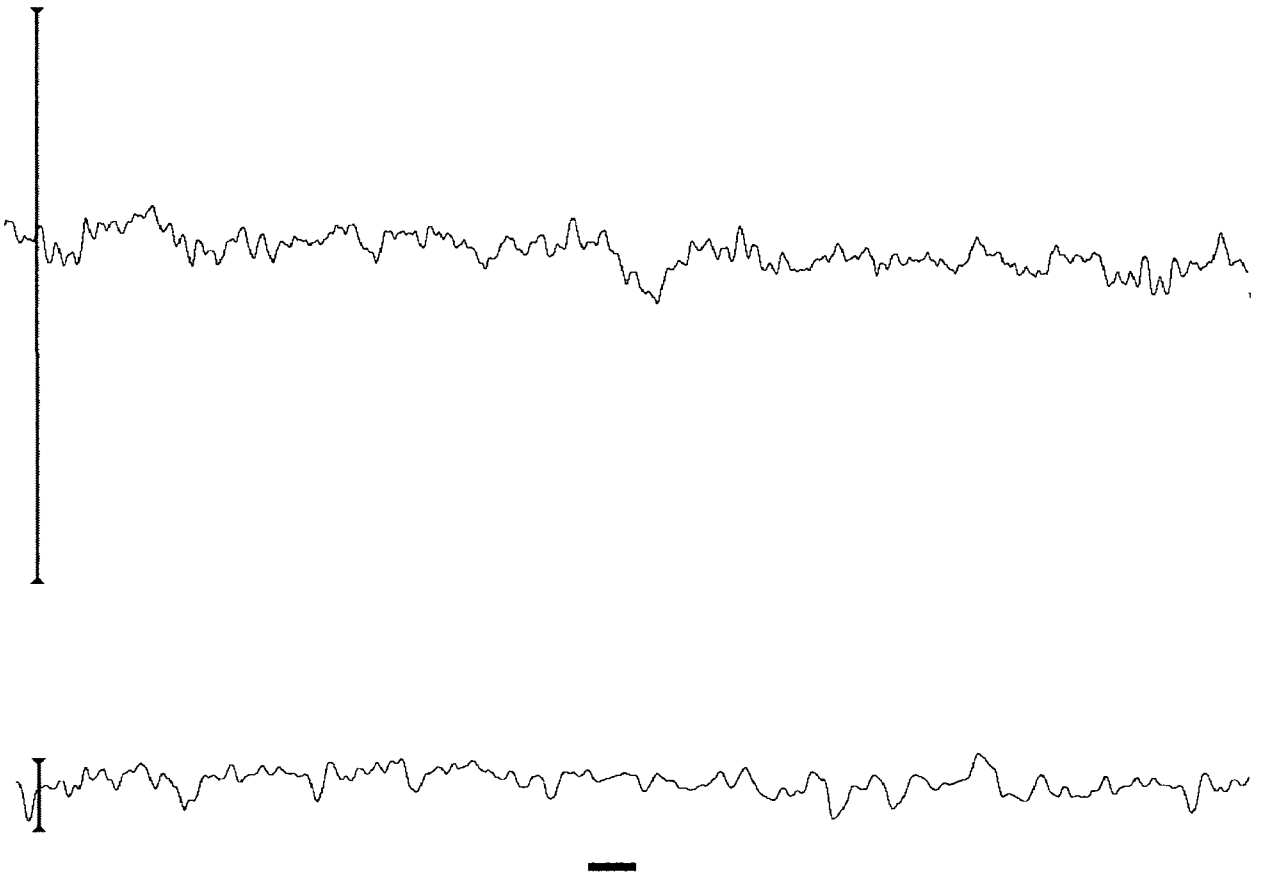

Рис. 3.6. Отсутствие реакции двенадцатиперстной кишки на введение серотонина в дозе 0,1 мг/кг (вверху – механограмма кишки, шкала 15 мм рт. ст.); внизу – ЭМГ, шкала 1 мВ. Жирная горизонтальная линия – отметка введения серотонина – 30 с.

В третьей группе животных (10 из 36, 27,8%) введение серотонина в дозе 0,1 мг/кг (30 проб) не приводило к развитию стимуляторного или тормозного действия на моторную активность двенадцатиперстной кишки. Величина фонового внутрикишечного давления составляла 10,12±1,42 мм рт ст., введение серотонина практически не изменяло его величину, оно составляло 10,31±1,1

мм рт ст (p>0,1). Фоновая амплитуда волн электромиограммы составила 0,71±0,18 мВ, введение серотонина также практически не изменяло амплитуду волн ЭМГ, которая составила 0,71±0,15 мВ (p>0,1) (рис. 3.6).

В третьей серии экспериментов 16 животным вводили серотонин в дозе 0,15 мг/кг. Стимуляторный эффект серотонина в этой дозе был сопоставим с таковым при введении 0,1 мг/кг серотонина: гидростатическое давление повышалось с 10,23±1,45 до 13,01±1,59 (27,2%, p<0,05) у 68,7% животных Продолжительность стимуляторной реакции также достоверно не отличалась и составляла 186±25,03 с.

В трех проведенных сериях экспериментов серотонин вводили одному животному на протяжении опыта как минимум 3-4 раза. В табл. 3.1 представлены количественные показатели стимуляторных и тормозных реакций двенадцатиперстной кишки на введение различных доз серотонина.

Таблица 3.1 - Показатели реакций двенадцатиперстной кишки на введение различных доз серотонина.

Дозы серотонина адипината (мг/кг)	Вид реакции	Количество животных	Количество животных, %
0,05	стимуляторная	7	22,5
0,05	тормозная	9	29
0,05	отсутствует	15	48,5
0,1	стимуляторная	23	63,9
0,1	Тормозная	3	8,3
0,1	Отсутствует	10	27,8
0,15	Стимуляторная	10	62,5
0,15	Тормозная	1	6,3
0,15	Отсутствует	5	31,2

Увеличение гидростатического давления в ответ на введение серотонина по результатам всех серий опытов приведены в табл. 3.2.

Эффекты введения одинаковых доз серотонина хорошо воспроизводились и не видоизменялись с течением времени. Реакции на серотонин начинались спустя 4-7 с, причем электрические и механические явления возникали практически одновременно: электрическая активность изменялась после введения серотонина через 4,03 ± 2,1 с, механическая - через 5,14 ± 3,5 с.

Таким образом, результаты опытов показали, что экзогенный серотонин вызывает примерно такие же стимуляторные реакции двенадцатиперстной кишки, как и раздражение серотонинергического нерва.

Принимая во внимание частоту встречаемости и степень выраженности стимуляторных реакций, в дальнейших экспериментах использовали дозу серотонина, равную 0,1 мг/кг.

Таблица 3.2 - Повышение гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки при введении различных доз серотонина адипината.

Дозы серотонина адипината (мг/кг)	*Фон до введения серотонина (мм рт.ст.)*	*Результат введения серотонина (мм рт.ст.)*	*Прирост гидростатического давления (%)*
0,05	*9,74 ± 1,23*	*12,25 ± 2,11*	*25,8%, p<0,05*
0,1	*10,81 ± 1,56*	*13,25 ± 1,58*	*22,6%, p<0,05*
0,15	*10,23±1,45*	*13,01±1,59*	*27,2%, p<0,05*

Вначале исследовали роль адрено- и холинергических механизмов в реализации стимулирующего действия серотонина на ЭМА двенадцатиперстной кишки.

3.3. Исследование роли адрено- и холинергических механизмов в осуществлении действия серотонина

3.3.1. Опыты с одновременной блокадой α- и β-адренорецепторов, N- и M-холинорецепторов

Для того, чтобы оценить влияние адрено- и холинергических механизмов на реакции двенадцатиперстной кишки при введении серотонина, в опытах одновременно блокировали α- и β-адренорецепторы, а также N- и M-холинорецепторы, с последующим введением серотонина.

Вначале, как обычно, исследовали эффекты действия самого серотонина в дозе 0,1 мг/кг у 28 крыс 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 26 животных выявили стимуляторные ответы: гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки возрастало с 11,25±1,41 до 13,98±1,58 мм рт.ст. (24,3%, $p<0,05$).

Затем, этим же животным одновременно вводили адрено- и холиноблокаторы (доксазозин, пропранолол, пентамин и бускопан). Внутрикишечное давление после введения комбинации препаратов через 10 мин уменьшилось с 11,25 ± 1,41 мм рт.ст. до 8,12 ± 1,9 мм рт. ст. (27,9%, $p<0,05$), рис. 3.7.

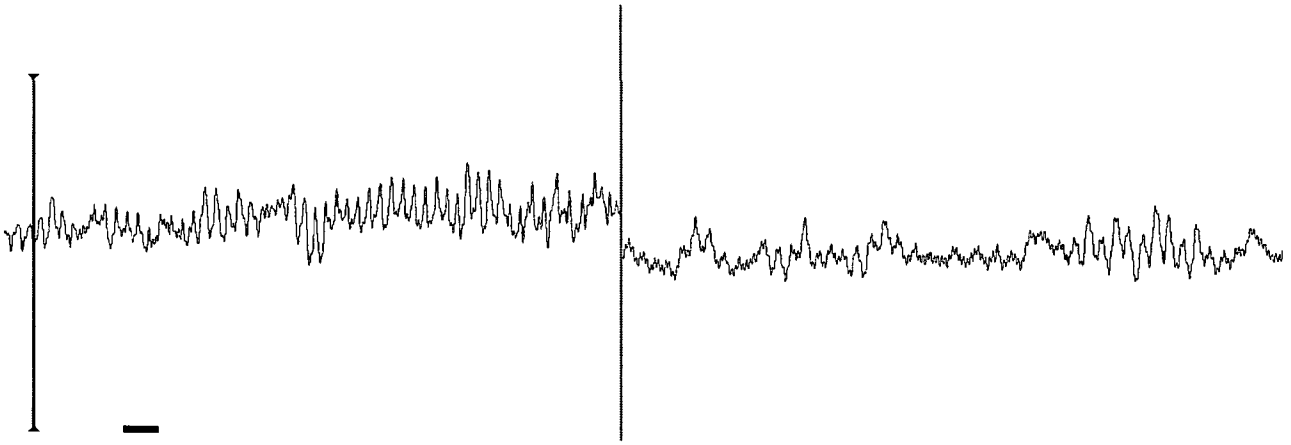

Рис. 3.7. Реакция двенадцатиперстной кишки на введение комбинации адрено- и холиноблокаторов. Шкала 15 мм рт. ст., отметка введения комбинации препаратов – 30 с. Слева - до введения, справа - через 10 минут после введения

Завершали данные эксперименты введением серотонина на фоне продолжающегося действия адрено- и холиноблокаторов. У 26 животных введение серотонина в дозе 0,1 мг/кг вызывало ярко выраженный стимуляторный ответ: гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки возрастало с 8,12 ± 1,31 мм рт.ст. до 19,31 ± 3,31 мм рт.ст. (100,8%, $p<0,05$). рис. 3.8. Начало реакции – через 3,03±1,12 с, что сопоставимо с предшествующими сериями опытов; продолжительность реакции - 450,27 ± 21,24 с, что значительно больше, чем в предшествующих сериях опытов – без блокады адрено- и холинергических механизмов.

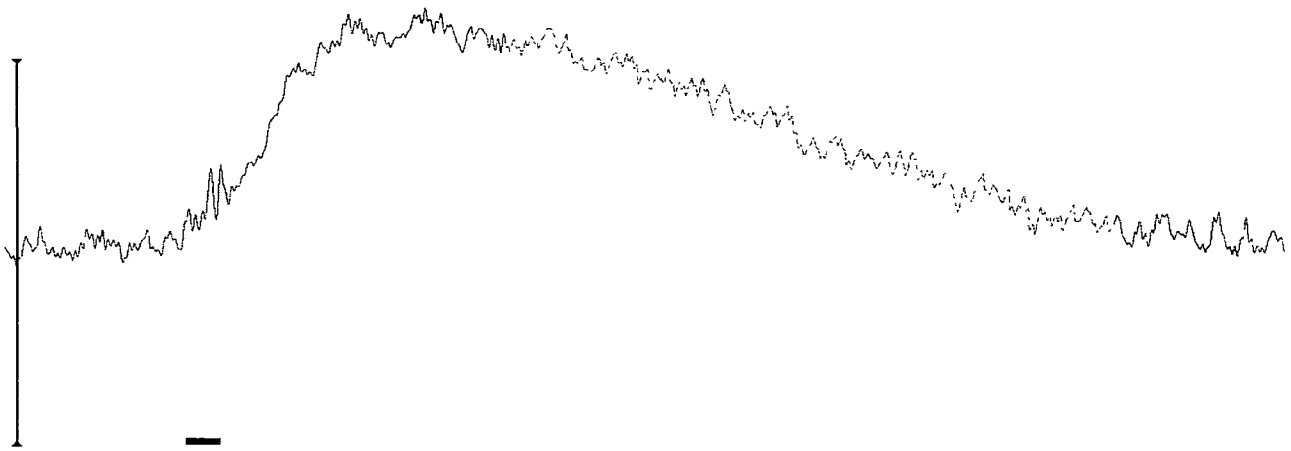

Рис. 3.8. Реакция двенадцатиперстной кишки (повышение гидростатического давления в ее полости) на введение серотонина (0,1 мг/кг) в условиях совместной блокады α- и β-адрено- и М- и N-холинорецепторов. Шкала 15 мм рт. ст., жирная линия внизу – отметка введения серотонина (30 с).

Суммарные данные о степени выраженности стимуляторных реакций двенадцатиперстной кишки при введении серотонина интактным животным и на фоне действия блокаторов α- и β-адренорецепторов и блокады N- и M-холинорецепторов представлены в табл. 3.3.

Таблица 3.3 - Выраженность стимуляторных реакций двенадцатиперстной кишки при введении серотонина интактным животным и на фоне действия блокаторов α- и β-адренорецепторов, N- и M- холинорецепторов.

Название препарата	Фон до введения блокаторов (мм рт.ст.)	Введение серотонина (0,1 мг/кг)	Результат введения блокаторов (мм рт.ст.)	Фон до введения серотонина (мм рт.ст.)	Результат введения серотонина (мм рт.ст.)	Прирост гидростати-ческого давления (%)
Комбинация доксазозина, пропранолола, пентамина и бускопана	11,25 ± 1,41	13,98 ± 1,58	8,12 ± 1,9 27,9%, p<0,05	8,12 ± 1,31	19,31 ± 3,31	100,8%, p<0,05

Поскольку блокада адрено- и холинорецепторов привела к усилению эффектов серотонина, значит эти рецепторы, являясь интактными, тормозят влияние серотонина. Выяснение этого вопроса начали с адренорецепторов.

3.3.2 Исследование роли адренорецепторов в реализации стимуляторных эффектов серотонина

Для установления роли α- и β-адренорецепторов в реализации стимуляторных эффектов серотонина, поставили три серии опытов.

Первая серия - эксперименты с проксодололом – блокатором α- и β-адренорецепторов выполнили на 32 крысах. Серотонин вводили на фоне

действия проксодолола, как обычно, в дозе 0,1 мг/кг (рис. 3.9). Сам по себе проксодолол на моторику кишки не влиял.

В серии этих опытов до введения проксодолола давление в кишке составило 11,42 ± 1,56 мм рт.ст., амплитуда волн ЭМГ - 0,69 ± 0,21 мВ, после введения, соответственно, 11,47 ± 1,19 мм рт.ст. и 0,70 ± 0,23 мВ.

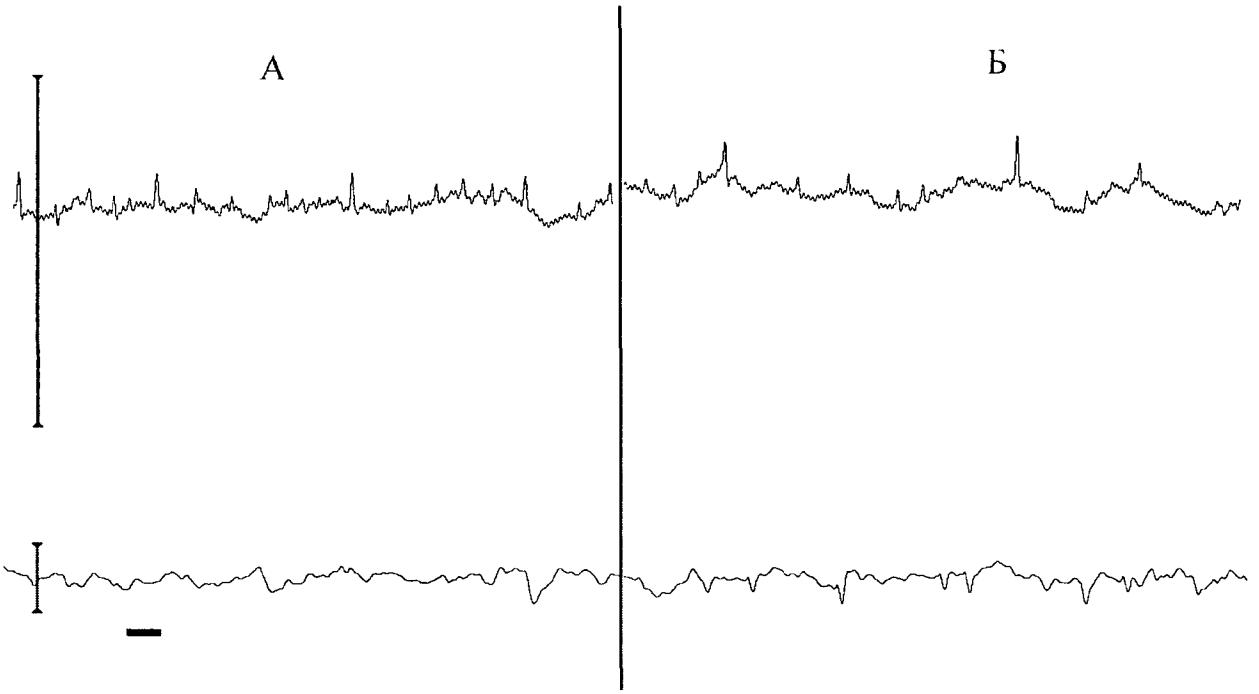

Рис. 3.9. Реакция двенадцатиперстной кишки крысы на подкожное введение проксодолола – блокатора α- и β-адренорецепторов (1 мг/кг, А) и через 10 мин после его введения (Б). Вверху – кривая изменений гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки, внизу – ЭМГ. Жирная линия внизу – отметка введения проксодолола (30 с). Шкалы: 15 мм рт. ст., 1 мВ.

Через 10 минут после инъекции проксодолола крысам вводили раствор серотонина (0,1 мг/кг), что у всех животных вызывало стимуляторные ответы: гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки возрастало с 11,47 ± 1,19 до 15,01 ± 1,43 мм рт.ст. (30,8%, $p<0,05$). Амплитуда медленных волн электромиограммы также увеличивалась с 0,69 ± 0,14 мВ до 1,61 ± 0,13 мВ (133,3%, $p<0,01$). Продолжительность реакций внутрикишечного давления составила 225,58 ± 24,49 с, для электромиограммы - 234,21 ± 16,07 с, что было

несколько больше, чем у животных с интактными α- и β-адренорецепторами (рис. 3.10).

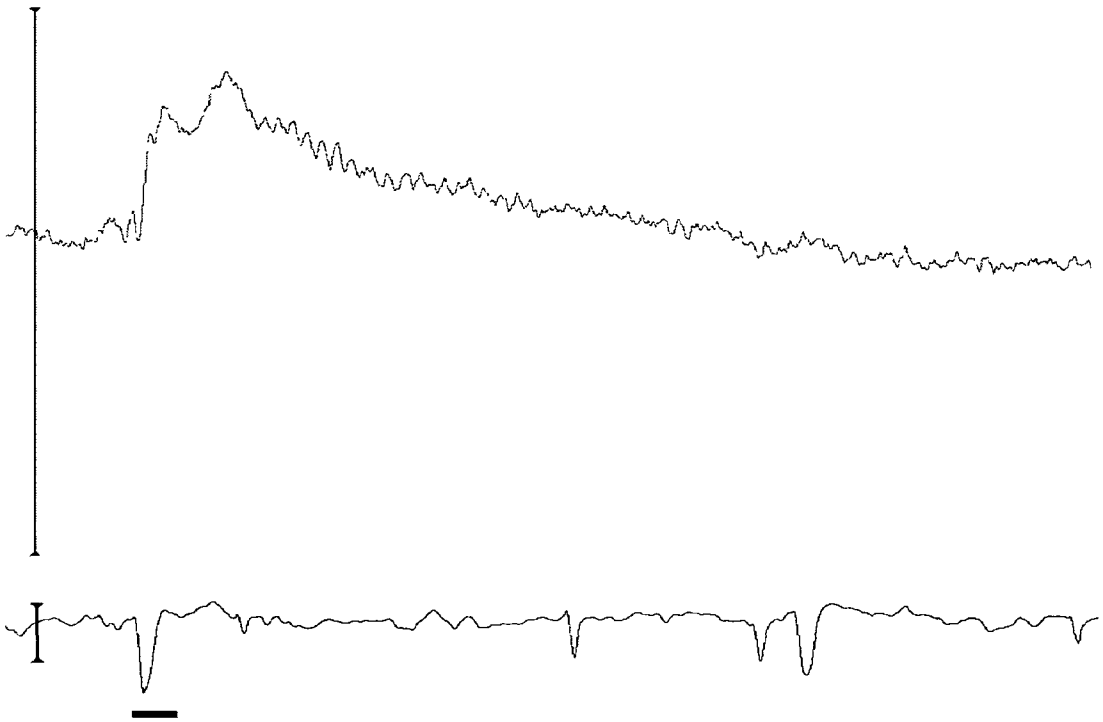

Рис. 3.10. Увеличение внутрикишечного давления (вверху) и амплитуды волн ЭМГ двенадцатиперстной кишки (внизу) в ответ на введение серотонина (0,1 мг/кг) на фоне действия проксодолола – блокатора α- и β-адренорецепторов. Жирная линия внизу – отметка введения серотонина (30 с). Шкалы: 15 мм рт.ст., 1 мВ.

Более подробно данные этой серии представлены в табл. 3.4.

Таким образом, мы установили, что блокада адренорецепторов не только не препятствует, а напротив, способствует развитию стимуляторных реакций, вызываемых введением серотонина, то есть интактные адренорецепторы препятствуют действию серотонина.

Поскольку совместная блокада α- и β-адренорецепторов способствовала увеличению амплитуды и продолжительности стимуляторных реакций, предприняли попытку изучения вклада α- и β-адренорецепторов по отдельности.

Таблица 3.4 - Прирост гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки, вызванный введением серотонина (0,1 мг/кг) на фоне действия различных адреноблокаторов.

Название препарата	Фон до введения блокаторов (мм рт.ст.)	Результат введения блокаторов (мм рт.ст.)	Фон до введения серотонина (мм рт.ст.)	Результат введения серотонина (мм рт.ст.)	Прирост гидростати-ческого давления (%)
Проксодолол – α- и β-адреноблокатор	11,42 ± 1,56	11,47 ± 1,19 p>0,05	11,47 ± 1,19	15,01 ± 1,43	30,8%, p<0,05
Доксазозин – α-адреноблокатор	10,22 ± 2,1	10,31 ± 1,51 p>0,05	10,34 ± 1,51	14,95 ± 1,58	44,6%, p<0,05
Пропранолол – β-адреноблокатор	11,03 ± 1,21	8,56 ± 1,51 -22,4%, p<0,05	8,56 ± 1,51	18,92 ± 2,09	121%, p<0,01

Роль α-адренорецепторов в реализации стимуляторных эффектов серотонина исследовали в опытах на 8 животных с использованием блокатора доксазозина. Серотонин в дозе 0,1 мг/кг вводили на фоне продолжающегося действия α-адреноблокатора доксазозина (1 мг/кг).

Вначале изучили действие самого доксазозина на параметры фонового давления и электрическую активность двенадцатиперстной кишки. В указанной дозе этот препарат не оказывал существенного влияния на моторику кишки: в среднем, до введения препарата фоновые показатели гидростатического давления составляли 10,22 ± 2,1 мм рт.ст. и 0,71 ± 0,18 мВ, после введения доксазозина – 10,31 ± 1,51 мм рт.ст., 0,69 ± 0,22 мВ (p>0,05), что согласуется с данными литературы (Suleyman H. et al., 2009).

Спустя 10 минут исследовали реакции двенадцатиперстной кишки у 8 крыс на введение серотонина (0,1 мг/кг). У всех животных отмечалось усиление моторики: гидростатическое давление в полости кишки возрастало с 10,34 ± 1,51 до 14,95 ± 1,58 мм рт.ст. (44,6%, p<0,05). Амплитуда медленных волн также

возрастала с 0,69 ± 0,22 мВ до 1,56 ± 0,19 мВ (126%, $p<0,05$). Продолжительность реакции для внутрикишечного давления составила 192,67 ± 26,24 с, для электромиограммы - 197,13 ± 11,89 с (рис. 3.11).

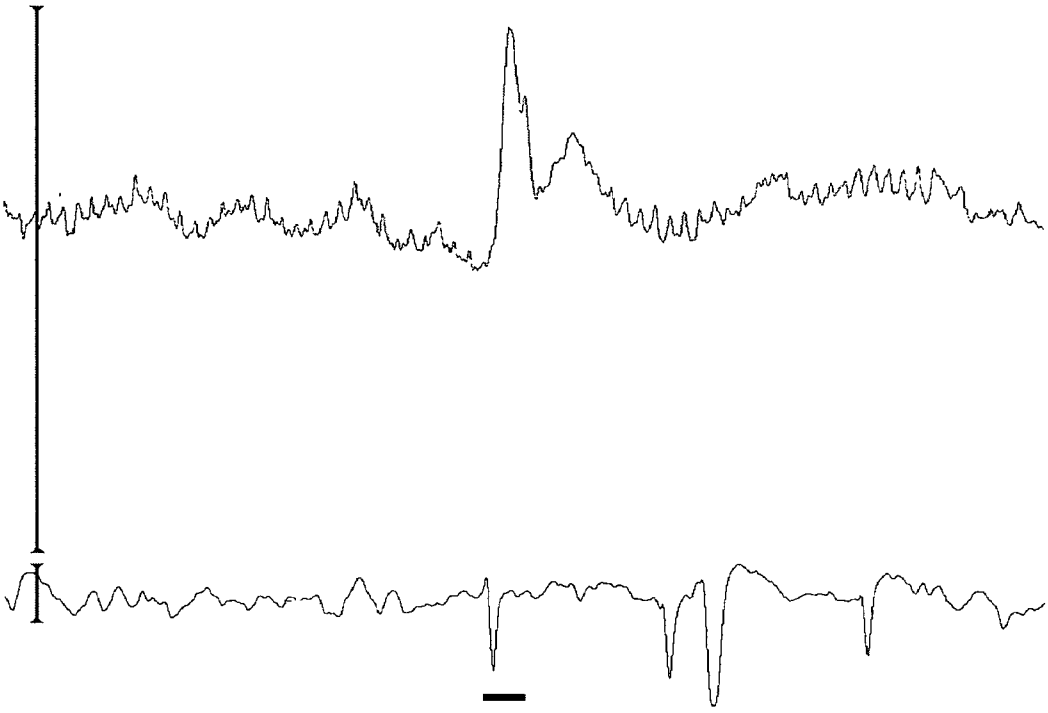

Рис. 3.11. Увеличение гидростатического давления (вверху) и медленных волн ЭМГ (внизу) двенадцатиперстной кишки на введение серотонина (0,1 мг/кг) на фоне действия α-адреноблокатора доксазозина. Жирная линия внизу – отметка введения серотонина (30 с). Шкалы: 15 мм рт.ст., 1 мВ.

Роль β-адренорецепторов в реализации стимуляторных эффектов серотонина изучали в отдельной серии на 10 животных. Серотонин (0,1 мг/кг) вводили на фоне продолжающегося действия β-адреноблокатора пропранолола в дозе 1 мг/кг, который вводили подкожно интактным животным.

Как и в предыдущей серии, вначале изучили действие самого пропранолола на параметры фонового давления и электрическую активность двенадцатиперстной кишки (рис. 3.12)

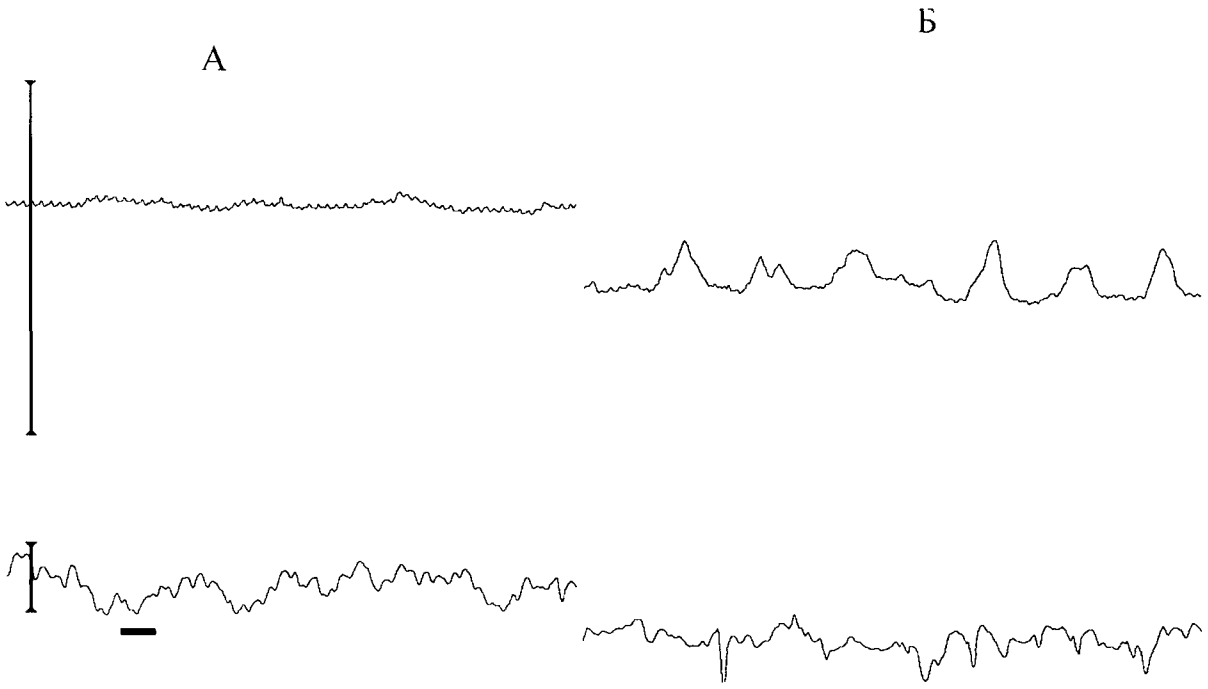

Рис. 3.12. Реакции двенадцатиперстной кишки крысы на введение пропранолола (1 мг/кг) (А) и через 10 мин после его введения (Б). Вверху – кривая изменений гидростатического давления в полости кишки, внизу – ЭМГ. Жирная линия внизу – отметка введения пропранолола (30 с). Шкалы: 15 мм рт. ст., 1 мВ.

В указанной дозе препарат изменял фоновые показатели моторики: до введения пропранолола они составляли 11,03 ± 1,21 мм рт.ст. и 0,71 ± 0,13 мВ, после введения пропранолола – 8,56 ± 1,51 мм рт.ст. (-22,4%, $p<0,05$) и, 0.83 ± 0,19 мВ (16,9%, $p<0,05$). Однако, у 57% животных, несмотря на снижение тонуса кишки, возникала ярко выраженная перистальтика, как например на рис. 3.12 Б.

Спустя 10 минут у 10 животных исследовали 10 реакций двенадцатиперстной кишки на введение серотонина (0,1 мг/кг). У всех животных отмечалось усиление моторики кишки (рис. 3.13): гидростатическое давление в ее полости возрастало с 8,56 ± 1,51 мм рт.ст., до 18,92 ± 2,09 мм рт.ст. (121%, $p<0,01$). Амплитуда медленных волн возрастала с 0,83 ± 0,19 мВ до 1,92 ± 0,23 мВ (131,3%, $p<0,01$). Продолжительность реакции составила 420,12 ± 56,24 с, что было выше, чем у животных с интактными β-адренорецепторами.

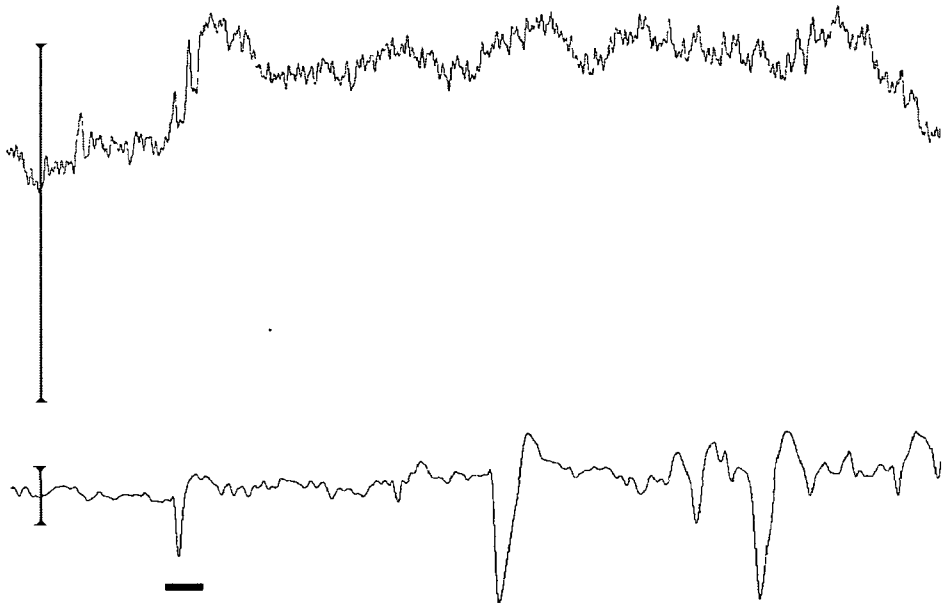

Рис. 3.13. Усиление сокращений двенадцатиперстной кишки (повышение гидростатического давления в ее полости и амплитуды электромиограммы) в ответ на введение серотонина (0,1 мг/кг), на фоне действия β-адреноблокатора пропранолола. Жирная линия внизу – отметка введения серотонина (30 с). Шкалы: 15 мм рт. ст., 1 мВ.

Суммарные данные по изучению роли α- и β-адренорецепторов в реализации стимуляторных эффектов серотонина представлены в табл. 3.4.

Как видно из табл. 3.4, введение пропранолола обеспечило максимальный прирост гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки в ответ на введение серотонина.

Таким образом, установлено, что блокада α- и β-адренорецепторов не только не препятствует, а напротив, способствует развитию стимуляторных эффектов, вызываемых введением серотонина.

После выполнения экспериментов с блокадой адренорецепторов выполнили опыты для выяснения возможного участия N- холинорецепторов вегетативных ганглиев в реализации стимуляторных реакций двенадцатиперстной кишки на серотонин.

3.3.3. Изучение участия N-холинорецепторов в осуществлении влияния серотонина

Выполнили эксперименты на 15 животных, которым серотонин вводили на фоне действия пентамина – блокатора N-холинорецепторов (1 мг/кг).

Как и в предшествующих сериях с блокаторами адренорецепторов, вначале изучили влияние самого ганглиоблокатора на моторику двенадцатиперстной кишки (рис. 3.14).

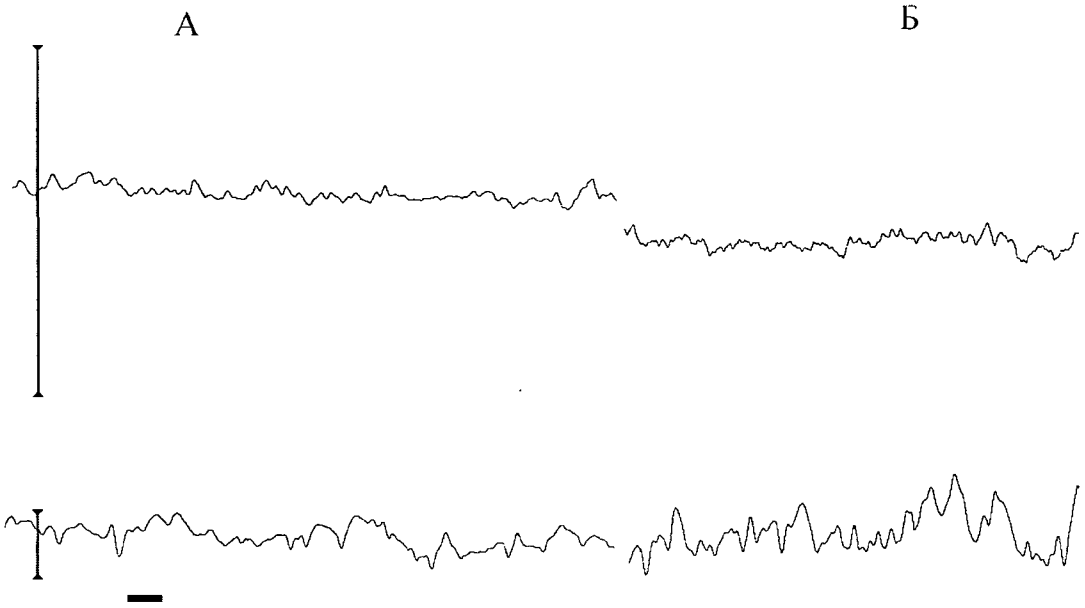

Рис. 3.14. Реакции двенадцатиперстной кишки крысы на введение пентамина 1 мг/кг (А) и через 10 мин после его введения (Б). Вверху – кривая изменений гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки, внизу – ЭМГ. Жирная линия внизу – отметка введения пентамина (30 с). Шкалы: 15 мм рт. ст., 1 мВ.

Как видно на рис. 3.14, пентамин изменял фоновые механические и электрические показатели: до введения препарата они составляли 11,05 ± 1,2 мм рт.ст. и 0,68 ± 0,21 мВ, после введения пентамина – 8,11 ± 1,63 мм рт.ст. (25,7%, $p<0,05$) и 0,84 ± 0,17 мВ (23,5%, $p<0,05$).

Придерживаясь стандартной схемы предшествующих серий опытов, спустя 10 минут после инъекции ганглиоблокатора вводили серотонин (рис. 3.15, табл. 3.5). У всех 15 животных наблюдались стимуляторные ответы: гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки возрастало с 8,11 ± 1,63 до 13,05 ± 1,16 мм рт.ст. (58,5%, $p<0,05$), что превышает аналогичный показатель в опыте с интактными N-холинорецепторами.

Амплитуда волн электромиограммы спустя 4,56±2,23 с возрастала с 0,84 ± 0,17 мВ до 1,51 ± 0,25 мВ (79,9%, $p<0,01$) (рис. 3.15, табл. 3.5).

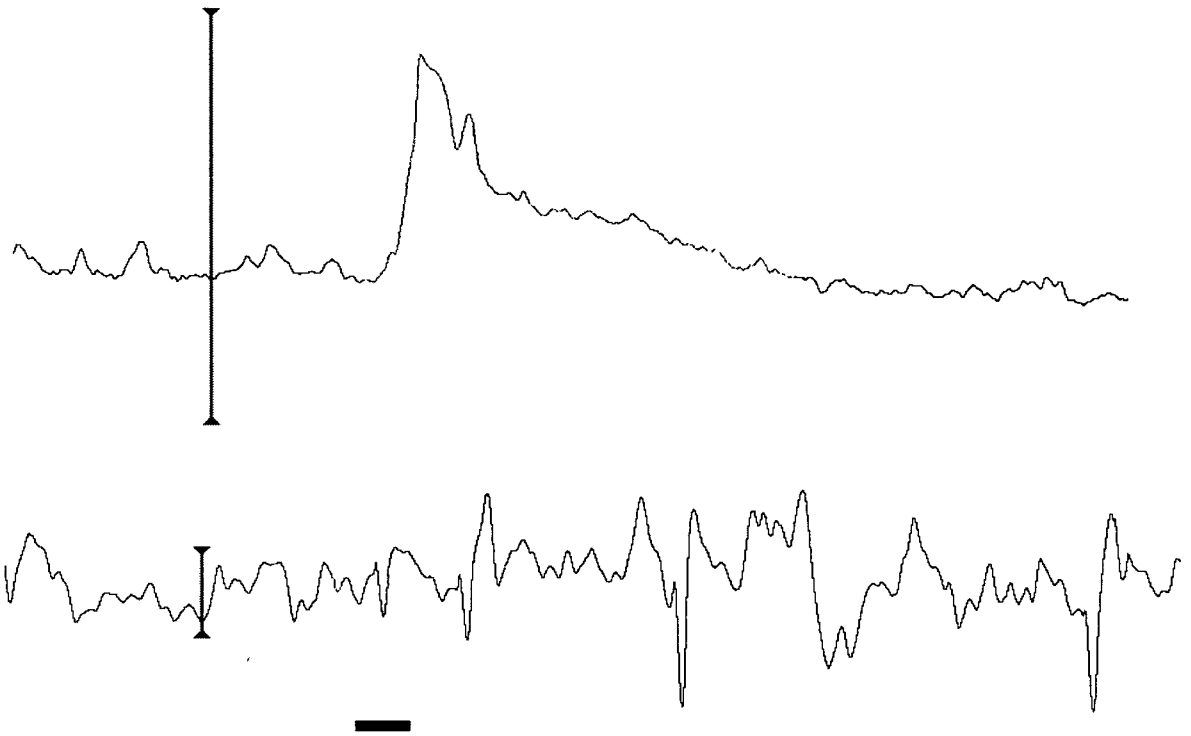

Рис. 3.15. Стимуляция сокращения двенадцатиперстной кишки после введения серотонина (0,1 мг/кг), на фоне действия N-холиноблокатора пентамина. Вверху – кривая изменений гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки, внизу – ЭМГ. Жирная линия внизу – отметка введения серотонина (30 с). Шкалы: 15 мм рт. ст., 1 мВ.

Продолжительность реакций (о них судили как обычно по изменению гидростатического давления) составила 179,34 ± 21,34 с, что было сопоставимо с результатами у интактных животных.

Таким образом, N-холинорецепторы не усиливают стимуляторный эффект серотонина. Более того, интактные N-холинорецепторы препятствуют осуществление стимуляторной реакции на введение серотонина.

С целью изучения роли М-холинорецепторов в реализации стимуляторных влияний, вызываемых серотонином, поставили эксперименты с М-холиноблокатором бускопаном.

3.3.4. Изучение роли М-холинорецепторов в осуществлении влияния серотонина

Исследовали 26 реакций двенадцатиперстной кишки на введение серотонина в опытах на 13 животных. Как и в предшествующих случаях с N-холиноблокаторами, вначале изучили влияние самого бускопана на фоновую моторику, а затем, спустя 10 минут животным вводили серотонин в дозе 0,1 мг/кг. Типичная реакция кишки на инъекцию бускопана показана на рис 3.16.

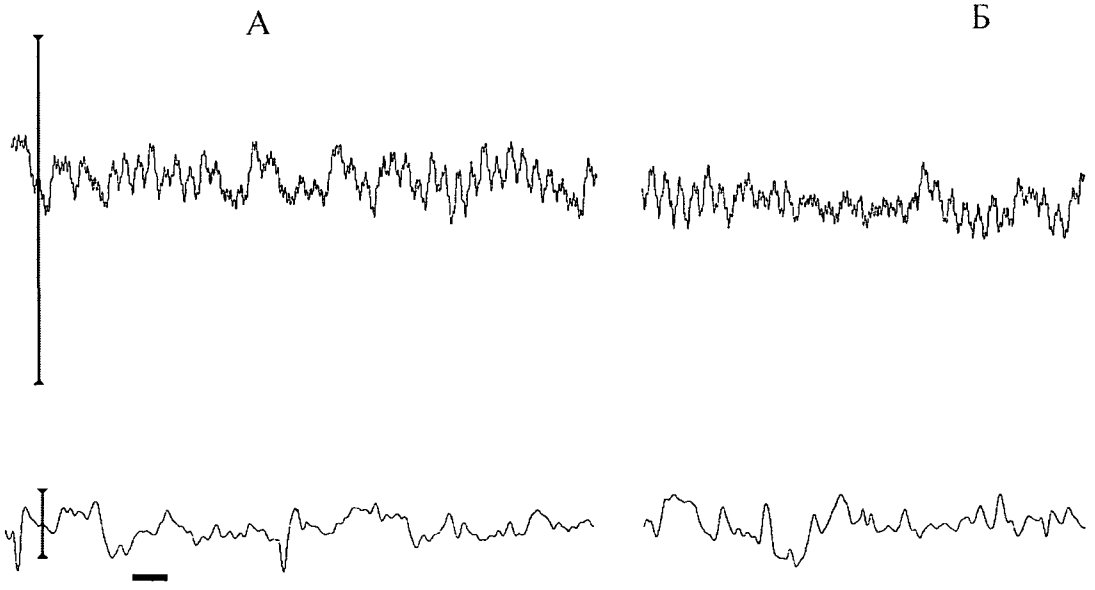

Рис 3 16 Реакция двенадцатиперстной кишки крысы на введение бускопана 1 мг/кг (А) и через 10 мин после его введения (Б) Вверху – кривая изменений гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки, внизу – ЭМГ Жирная линия внизу – отметка введения бускопана (30 с) Шкалы 15 мм рт ст, 1 мВ

В серии этих экспериментов бускопан в дозе 1 мг/кг не оказывал заметного влияния на моторику: уровень гидростатического давления и ЭМГ практически не изменился: до момента его введения гидростатическое давление составляло 11,23 ± 1,93 мм рт.ст., амплитуда медленных волн составила 0,72 ± 0,16 мВ, спустя 10 минут эти же показатели составили, соответственно 11,03 ± 2,16 мм рт.ст. и 0,72 ± 0,35 мВ.

Далее в этом же опыте на фоне продолжающегося действия бускопана вводили серотонин (0,1 мг/кг.) У всех 13 животных получены стимуляторные реакции: гидростатическое давление возрастало с 11,03 ± 2,16 мм рт.ст, до 14,65 ± 1,19 мм рт.ст. (32,8%, $p<0,05$), электрическая активность также возрастала с 0,72 ± 0,35 мВ до 1,49 ± 0,17 мВ (106,9%, $p<0,05$), рис 3.17. Продолжительность стимуляторных реакций составляла 231.53 ± 45.2 с, что было выше, чем у интактных животных (рис 3.17).

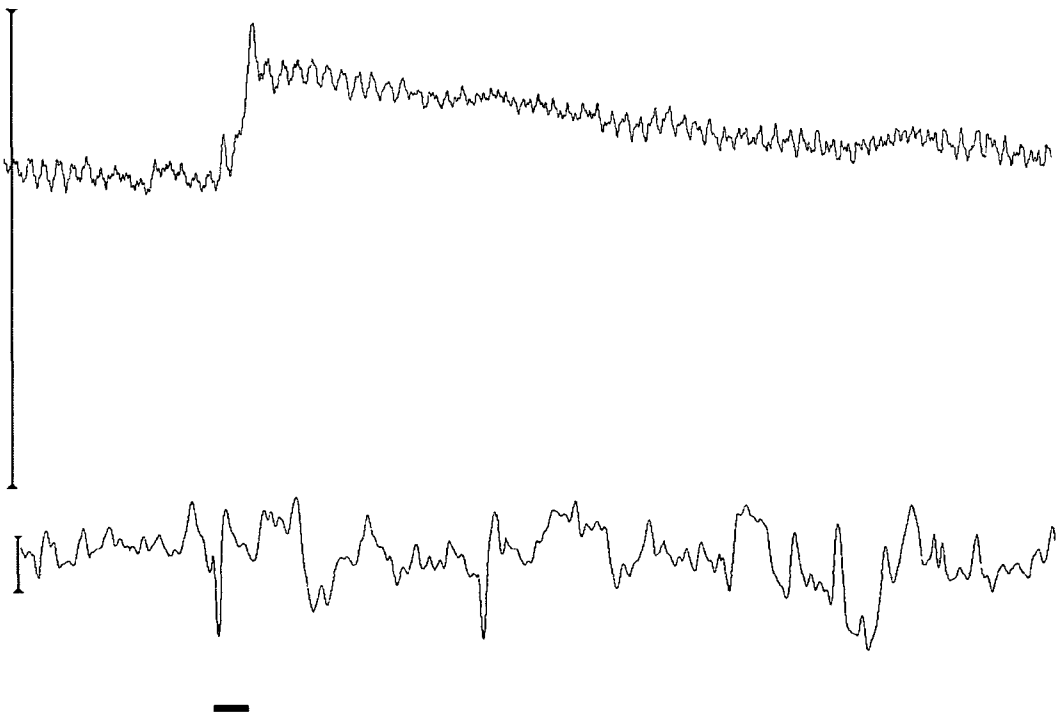

Рис. 3.17. Усиление сокращений двенадцатиперстной кишки и волн ЭМГ на введение серотонина (0,1 мг/кг) на фоне действия М-холиноблокатора бускопана. Вверху – кривая изменений гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки, внизу – ЭМГ. Жирная линия внизу – отметка введения серотонина (30 с). Шкалы: 15 мм рт. ст., 1 мВ.

Суммарные показатели изменения давления в двенадцатиперстной кишке по результатам данной серии представлены в табл. 3.5.

Таблица 3.5 - Изменение гидростатического давления в двенадцатиперстной кишке, вызванное введением серотонина (0,1 мг/кг) на фоне действия пентамина и бускопана.

Название препарата	Фон до введения блокаторов (мм рт.ст.)	Результат введения блокаторов (мм рт.ст.)	Фон до введения серотонина (мм рт.ст.)	Результат введения серотонина (мм рт.ст.)	Прирост гидростати-ческого давления (%)
Пентамин – N-холиноблокатор	11,05 ± 1,2	8,11 ± 1,63 $p<0,05$	8,11 ± 1,63	13,05 ± 1,16	58,5%, $p<0,05$
Бускопан – M-холиноблокатор	11,23 ± 1,93	11,03 ± 2,16 $p>0,1$	11,03 ± 2,16	14,65 ± 1,19	32,8%, $p<0,05$

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. Особо сильный эффект был при введении серотонина на фоне действия пропранолола – β-адреноблокатора – на 121% . Это неожиданное для нас явление свидетельствует о том, что адрено- и холинергические механизмы препятствуют влиянию серотонина на сокращения двенадцатиперстной кишки, что мы учитывали в дальнейших исследованиях.

3.4. Исследование локализации различных типов 5-НТ-рецепторов в ганглиях и на гладкомышечных клетках

Главной целью этих экспериментов было выявление роли каждого типа 5НТ-рецепторов на нейронах вегетативных ганглиев и на гладкомышечных клетках двенадцатиперстной кишки.

Изучение роли различных типов серотонинорецепторов проводили в условиях одновременной блокады α- и β-адренорецепторов и М- и N-холинорецепторов. В начале каждого опыта изучали эффекты действия только серотонина в дозе 0,1 мг/кг – без каких-либо других фармакологических препаратов, кроме наркоза. После получения стимуляторных эффектов, спустя две минуты после окончания реакций, одновременно, вводили адрено- и холиноблокаторы (доксазозин, пропранолол, пентамин и бускопан). Перечисленные препараты вводили отдельными инъекциями в подкожную клетчатку конечностей. Спустя 10 минут вновь исследовали реакции двенадцатиперстной кишки на серотонин – убеждались, что серотонин вызвал хорошо выраженную реакцию. После окончания этих реакций, через 5 минут производили внутриартериальную инъекцию блокатора определенного типа серотониновых рецепторов. Спустя еще 5 минут после последней инъекции вновь вводили серотонин в той же дозе.

Подобная подготовка обеспечивала получение более надежных результатов в изучении роли отдельных типов серотониновых рецепторов в усилении сокращений двенадцатиперстной кишки. Понятно, что селективная блокада серотонинорецепторов нейронов вегетативных ганглиев не должна устранять влияние серотонина на рецепторы гладких мышц двенадцатиперстной кишки, поэтому введение серотонина в условиях блокады серотонинорецепторов серотонинергических нейронов вегетативных ганглиев должно вызывать сокращение двенадцатиперстной кишки.

На основании результатов этих опытов можно сделать вывод о типе серотонинорецепторов, локализующихся на нейронах вегетативных ганглиев или на гладких мышцах.

3.4.1. Опыты с миансерином – блокатором $5HT_{1D}$, $5HT_{2A}$, $5HT_{2C}$, $5HT_3$, $5HT_6$, $5HT_7$-рецепторов и α-адренорецепторов

Опыты по изучению различных типов 5НТ-рецепторов в регуляции сокращений двенадцатиперстной кишки начинали с блокады 5НТ-рецепторов неселективным блокатором – миансерином. Если стимуляторный эффект выключится, как предполагалось, можно приступить к постановке экспериментов с селективными блокаторами 5НТ-рецепторов.

Миансерин – блокатор 5-$HT_{1D.\ 2A\ \ 2C.\ 3\ .6.\ 7}$-рецепторов, вводили 9-ти животным и изучили 9 реакций двенадцатиперстной кишки на введение серотонина.

Эксперимент выполняли на фоне действия комбинации адрено- и холиноблокаторов, (доксазозин, пропранолол, пентамин и бускопан – каждый препарат в дозе 1 мг/кг), чтобы исключить адрено- и холинергические механизмы.

Затем в этом же эксперименте животным вводили миансерин (1 мг/кг). У всех 9 животных миансерин сам по себе практически не изменял внутрикишечное давление 8,16 ± 1,25 и 8,11 ± 1,68 мм рт.ст. (0,6%, $p>0,1$) и амплитуду волн электромиограммы: 0,91 ± 0,07 мВ и 0,89 ± 0,21 мВ (2%, $p>0,1$).

Введение серотонина на фоне продолжающегося действия комбинации препаратов и миансерина ни у одного животного не вызывало изменений гидростатического давления – оно составляло, соответственно, 8,11 ± 1,68 и 8,21 ± 2,08 мм рт.ст. (1,2 %, $p>0,05$). Амплитуда медленных волн ЭМГ в ответ на введение серотонина оставалась практически стабильной: 0,91 ± 0,07 мВ и 0,92 ± 0,13 мВ ($p>0,05$), рис. 3.18.

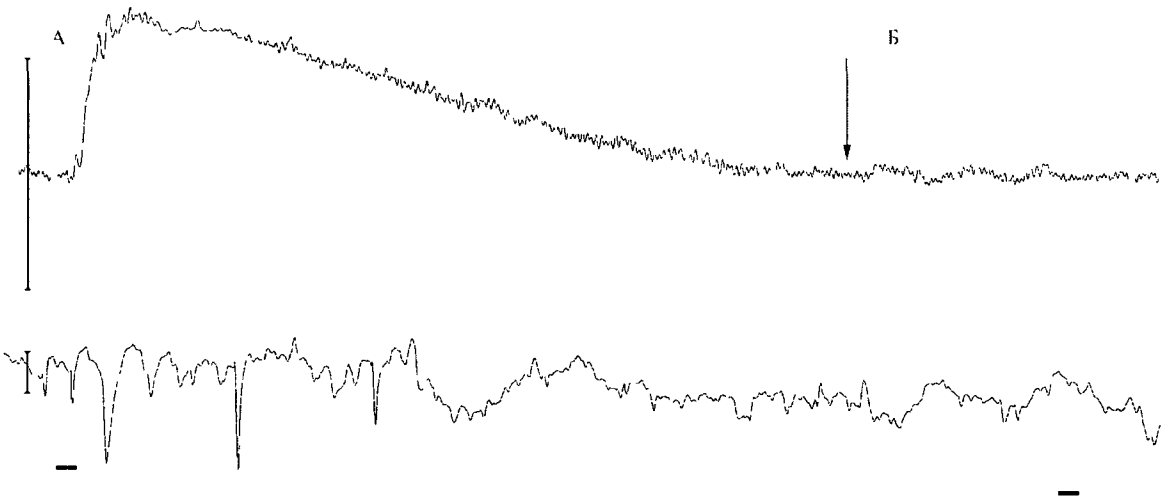

Рис 3.18. Реакции двенадцатиперстной кишки на введение серотонина (0,1 мг/кг) в различных условиях: А – на фоне совместного действия адрено- и холиноблокаторов, Б – на фоне совместного действия адрено- и холиноблокаторов и миансерина – блокатора $5HT_{1D}$, $5HT_{2A}$, $5HT_{2C}$, $5HT_3$, $5HT_6$, $5HT_7$-рецепторов (стрелка). Вверху – кривая изменений гидростатического давления в полости кишки, внизу – ЭМГ. Жирные линии внизу – отметки введения серотонина (30 с). Шкалы: 15 мм рт. ст, 1 мВ.

Эксперименты с миансерином - неселективным блокатором 5HT-рецепторов - показали, что стимуляторный эффект серотонина предотвращается. Далее приступили к изучению роли различных типов серотонинорецепторов в передаче сигнала в ганглиях и на гладкие мышцы.

3.4.2. Эксперименты с NAS-181 – блокатором $5HT_{1b}$-рецепторов

NAS-181 – блокатор $5HT_{1b}$-рецепторов - вводили 7 животным, изучили 14 реакций двенадцатиперстной кишки на введение серотонина (7 – до введения NAS-181 и 7 – после введения NAS-181).

Эксперимент выполняли согласно стандартной схеме – на фоне действия комбинации адрено- и холиноблокаторов (доксазозин, пропранолол, пентамин и бускопан – каждый препарат в дозе 1 мг/кг), исключающих влияние адрено- и холинергических механизмов, вводили серотонин в дозе 0,1 мг/кг (рис. 3.19.А), что сопровождалось обычным усилением сокращений двенадцатиперстной кишки – гидростатическое давление в полости кишки увеличивалось с 8,03 ±

1,09 мм рт.ст. до 19,25 ± 3,24 мм рт.ст. (139%, $p<0,05$), амплитуда медленных волн ЭМГ возрастала с 0,79 ± 0,07 мВ до 1,18 ± 0,16 мВ (49,3%, $p<0,05$).

Введение серотонина на фоне продолжающегося действия комбинации адрено- и холиноблокаторов и NAS-181 (0,1 мг/кг) также у всех 7 животных вызывало стимуляторные реакции: гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки и ЭМГ увеличилось, соответственно, с 8,12 ±1,43 мм рт.ст и 0,79 ± 0,07 мВ до 17,35 ± 1,14 мм рт.ст (113,7%, $p<0,05$) и 1,95 ± 0,12 мВ (146,9%, $p<0,05$).

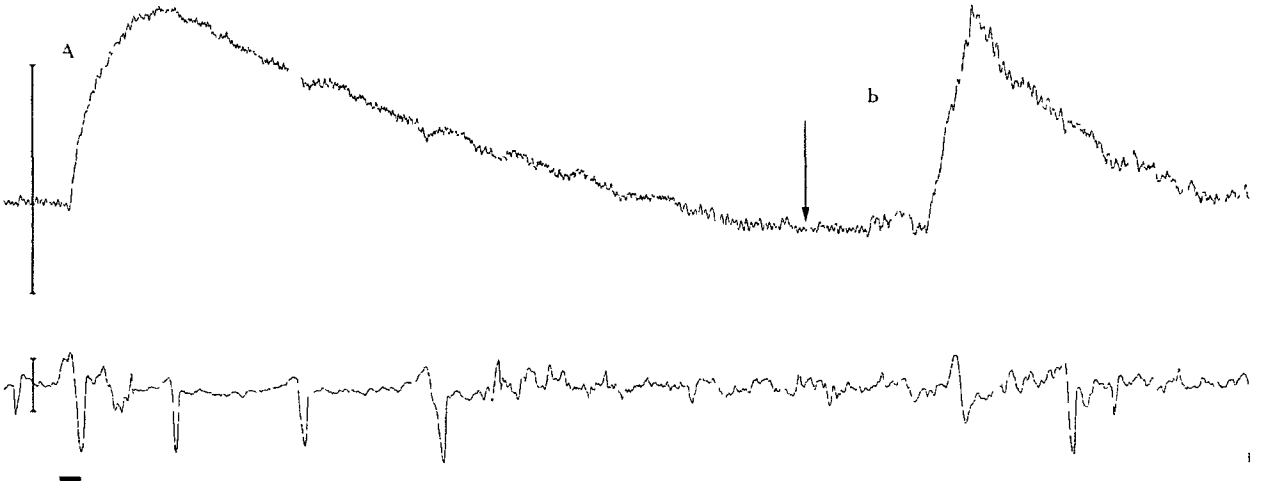

Рис. 3 19 Реакции двенадцатиперстной кишки на введение серотонина (0,1 мг/кг) в различных условиях. А – на фоне совместного действия адрено- и холиноблокаторов, Б - на фоне совместного действия адрено- и холиноблокаторов и NAS-181 – блокатора $5HT_{1b}$-рецепторов (стрелка) Вверху – гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки. Внизу – ЭМГ Жирные горизонтальные линии – отметки введения серотонина (30с) Шкалы· 15 мм рт ст, 1 мВ.

Результаты экспериментов с NAS-181 – блокатором $5HT_{1b}$-рецепторов свидетельствуют о том, что данный тип 5HT-рецепторов локализуется не на гладкомышечных клетках кишки поскольку стимуляторный эффект серотонина в опыте не предотвращался – прямое действие серотонина на мышцу сохранялось, а если учесть, что наличие $5\text{-}HT_{1,2,3,4}$-рецепторов в серотонинергической нервной системе уже доказано другими исследователями

(Смирнов В.М. и соавт., 1986-2010), то можно сделать вывод о локализации 5-HT_1-рецепторов на нейронах вегетативных ганглиев.

3.4.3. Эксперименты с SB 204741 – блокатором $5HT_{2b}$-рецепторов

Эксперименты выполнили на 9 животных, изучили 18 реакций двенадцатиперстной кишки на введение серотонина (9 – до введения SB 204741, 9 – на фоне действия SB 204741). Серотонин (0,1 мг/кг), как и в предыдущей серии, вводили на фоне действия комбинации адрено- и холиноблокаторов (доксазозин, пропранолол, пентамин и бускопан – каждый препарат в дозе 1 мг/кг), выключающих адрено- и холинергические механизмы. Гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки на фоне действия комбинации адрено- и холиноблокаторов увеличивалось с 8,05 ± 1,21 мм рт.ст. до 10,43 ± 1,67 мм рт.ст. (29,5%, $p<0,05$), амплитуда медленных волн ЭМГ с 0,78 ± 0,12 мВ до 1,16 ± 0,19 мВ (50,6%, $p<0,05$) по сравнению с исходным уровнем.

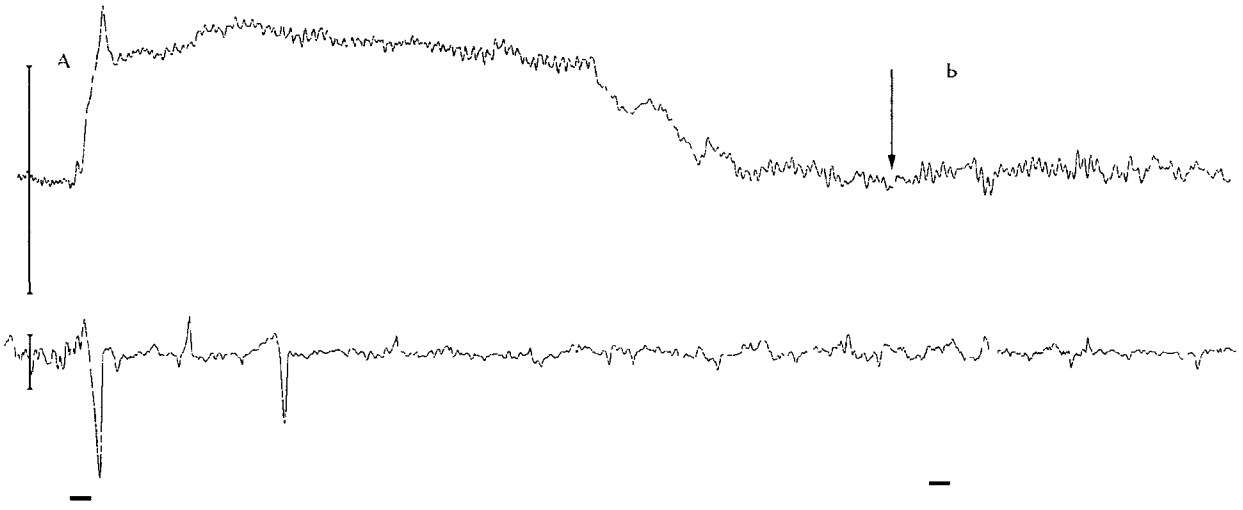

Рис. 3.20. Реакции двенадцатиперстной кишки на введение серотонина (0,1 мг/кг) в различных условиях. А – на фоне совместного действия адрено- и холиноблокаторов, Б – на фоне совместного действия адрено- и холиноблокаторов и SB 204741 – блокатора $5HT_{2b}$-рецепторов (стрелка) Вверху – кривая изменений гидростатического давления в полости кишки, внизу – ЭМГ. Жирные горизонтальные линии - отметки введения серотонина - 30с Шкалы· 15 мм рт. ст, 1 мВ.

Спустя 10 минут в этом же эксперименте животным вводили SB 204741 – блокатор $5HT_{2b}$-рецепторов (0,1 мг/кг), что не вызывало существенных изменений гидростатического давления и амплитуды медленных волн ЭМГ: до введения SB 204741 в среднем, эти показатели составили 8,05 ± 1,21 мм рт.ст. и 0,78 ± 0,12 мВ; после инъекции, соответственно 8,49 ± 2,91 мм рт.ст. (5%, $p>0,05$) и 0,75 ± 0,18 мВ (3,5%, $p>0,1$) рис. 3.20.А.

Введение серотонина на фоне продолжающегося действия комбинации адрено- и холиноблокаторов и SB 204741 не вызывало реакций, то есть SB 204741 предотвращал развитие стимуляторного эффекта на серотонин. Гидростатическое давление в полости желудка перед введением серотонина составляло 8,3±2,91 мм рт.ст., после введения серотонина давление осталось на прежнем уровне - 8,23 ± 1,55 мм рт.ст. (0,8%, $p>0,1$). Электрическая активность, существенно не изменяясь с момента введения блокатора, составила, соответственно, 0,78 ± 0,12 мВ и 0,75 ± 0,12 мВ (4%, $p>0,05$), см рис. 3.20Б.

Дополнительно нами была поставлена серия опытов с более низкой концентрацией SB 204741 (0,05 мг/кг). Исследование проводили на 8 животных и получили 8 реакций двенадцатиперстной кишки. Как и в предыдущей серии опытов контрольную инъекцию серотонина (0,1 мг/кг) осуществляли на фоне действия адрено- и холиноблокаторов (доксазозин, пропранолол, пентамин и бускопан каждый препарат в дозе 1 мг/кг) рис. 3.21.А. Вследствие этого гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки увеличивалось с 8,05 ± 1,18 мм рт.ст. до 10,43 ± 1,56 мм рт.ст. (29,5%, $p<0,05$), амплитуда медленных волн ЭМГ с 0,78 ± 0,15 мВ до 1,16 ± 0,21 мВ (50,6%, $p<0,05$).

Далее на фоне действия адрено- и холиноблокаторов вводили SB 204741 в более низкой концентрации (0,05 мг/кг), затем – серотонин (0,1 мг/кг). До инъекции серотонина показатели внутрикишечного давления и амплитуды волн ЭМГ составили, соответственно, 8,16 ± 1,07 мм рт.ст. и 0,76 ± 0,14 мВ, после введения серотонина, соответственно, 10,23 ± 1,65 мм рт.ст. (20,2%, $p<0,05$) и

0,98 ± 0,19 мВ (28,9%, $p<0,05$), то есть, неполная блокада 5-HT_{2b}-рецепторов не предотвращала возникновение стимуляторного эффекта серотонина.

Далее на фоне действия адрено- и холиноблокаторов вводили SB 204741 в более высокой концентрации (0,1 мг/кг), затем – серотонин (0,1 мг/кг). До инъекции серотонина показатели внутрикишечного давления и амплитуды волн ЭМГ составили, соответственно, 8,05 ± 1,21 мм рт.ст. и 0,77 ± 0,13 мВ, после введения серотонина, соответственно, 8,23 ± 1,55 мм рт.ст. (1,4%, $p>0,1$) и 0,74 ± 0,16 мВ (3,8%, $p>0,1$), то есть, блокада 5-HT_{2b}-рецепторов предотвращала возникновение стимуляторного эффекта серотонина.

Результаты экспериментов с SB 204741, во-первых, показали, что выбранная нами доза блокатора (0,1 мг/кг) является достаточной.

Во-вторых, эти результаты свидетельствуют о том, что $5HT_{2b}$-рецепторы локализуются на гладкомышечных клетках двенадцатиперстной кишки, поскольку стимуляторный эффект серотонина полностью выключился данной дозой блокатора $5HT_{2b}$-рецепторов.

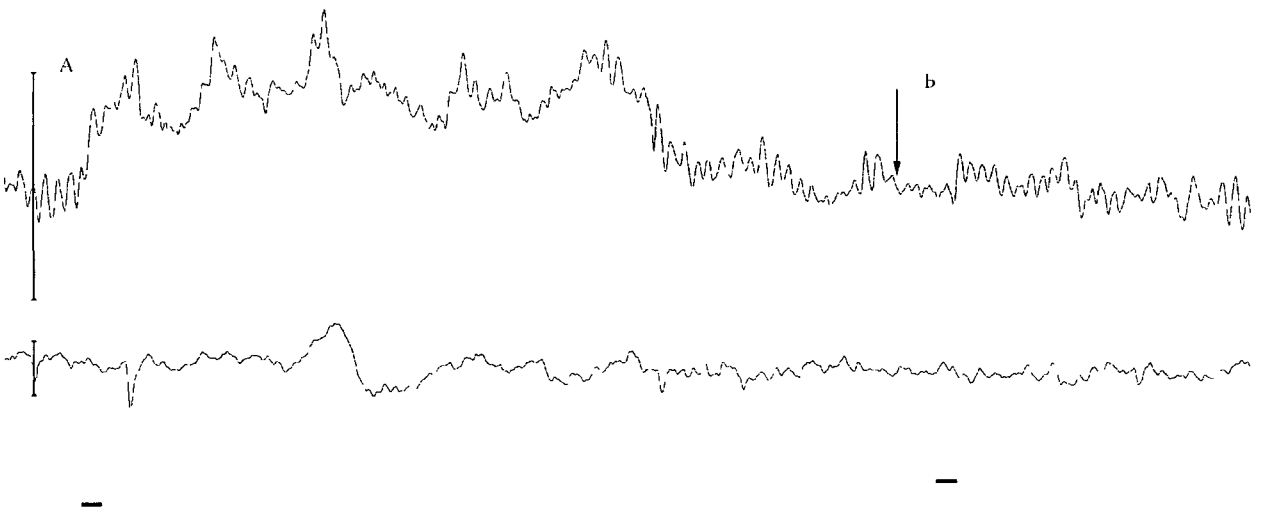

Рис 3 21 Реакции двенадцатиперстной кишки на введение серотонина (0,1 мг/кг) в различных условиях А – на фоне совместного действия адрено- и холиноблокаторов, Б – на фоне совместного действия адрено- и холиноблокаторов и SB 204741 – блокатора $5HT_{2b}$ –рецепторов (стрелка) в дозе 0,05 мг/кг. Вверху – кривая изменений гидростатического давления в полости кишки, внизу – ЭМГ Жирные горизонтальные линии - отметки введения серотонина - 30с Шкалы 15 мм рт ст , 1 мВ

3.4.4. Опыты с MDL 72222 – блокатором $5HT_3$-рецепторов

Эксперимент начинали с введения серотонина. Убедившись в наличии ответа на введение серотонина, вводили комбинацию адрено- и холиноблокаторов (доксазозин, пропранолол, пентамин и бускопан – каждый препарат в дозе 1 мг/кг), затем опять – серотонин (0,1 мг/кг), что вызывало обычный стимуляторный эффект – гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки увеличивалось с 8,32 ± 1,24 мм рт.ст. до 10,72 ± 1,32 мм рт.ст. (29%, $p<0,05$), амплитуда медленных волн ЭМГ с 0,92 ± 0,11 мВ до 1,18 ± 0,14 мВ (28,2%, $p<0,05$).

Далее подопытным животным (n=9), на фоне действия комбинации адрено- и холиноблокаторов, вводили MDL 72222 (1 мг/кг) – блокатор $5HT_3$-рецепторов. Инъекция MDL 72222 сама по себе практически не влияла на показатели гидростатического давления: до введения MDL 72222 8,32 ± 1,07 мм рт.ст., после - 8,03 ± 1,32 мм рт.ст (3,5%, $p>0,05$). Амплитуда медленных волн ЭМГ под воздействием препарата незначительно уменьшалась – с 0,92 ± 0,11 мВ до 0,90 ± 0,09 мВ (2,2%, $p>0,1$).

Затем этим же животным снова вводили серотонин на фоне совместного действия адрено- и холиноблокаторов и блокатора $5HT_3$-рецепторов MDL 72222, что вызывало хорошо выраженные стимуляторные реакции: гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки увеличивалось с 8,03 ± 1,32 мм рт.ст. до 12,21 ± 2,14 мм рт.ст. (52,1%, $p<0,05$); амплитуда медленных волн ЭМГ при этом практически не изменялась: 0,90 ± 0,19 мВ и 0,89 ± 0,14 мВ ($p>0,05$). Продолжительность полученных реакций составила 120,15 ± 7,26 с, что было меньше, чем у интактных животных. До блокады $5HT_3$-рецепторов, такая же доза серотонина вызывала прирост показателей гидростатического давления на 30%.

Результаты данной серии опытов свидетельствуют о том, что $5HT_3$-рецепторы локализуются не на гладкомышечных клетках двенадцатиперстной

кишки, а преимущественно на нейронах вегетативных ганглиев, поскольку стимуляторный эффект серотонина не предотвращается этим блокатором, более того, он был более выражен, чем у животных с интактными $5HT_3$-рецепторами.

3.4.5. Опыты с RS 39604 – блокатором $5HT_4$-рецепторов

В данной серии, как и предыдущей, эксперимент проводили согласно стандартной схеме. Подопытным животным (n=9) вначале вводили серотонин, и, получив ответ, продолжали фармакологический анализ.

Чтобы исключить адрено- и холинергические механизмы вводили комбинацию адрено- и холиноблокаторов (доксазозин, пропранолол, пентамин и бускопан – каждый препарат в дозе 1 мг/кг). Далее в этом же опыте на фоне продолжающегося действия адрено- и холиноблокаторов, вводили серотонин в дозе 0,1 мг/кг – гидростатическое давление в полости двенадцатиперстной кишки увеличивалось с 8,19 ± 0,52 мм рт.ст. до 10,27 ± 1,12 мм рт.ст. (25,8%, $p<0,05$), амплитуда медленных волн ЭМГ с 0,92 ± 0,11 мВ до 1,15 ± 0,25 мВ (25%, $p>0,05$).

Затем на фоне действия адрено- и холиноблокаторов вводили RS 39604 (0,1 мг/кг) – блокатор $5HT_4$-рецепторов. Инъекция самого RS 39604 у всех 9 животных сопровождалась стимуляторными реакциями: по результатам всей серии давление в полости кишки возрастало с 8,14 ± 1,04 мм рт.ст. до 11,21 ± 0,93 мм рт.ст. (37,7%, $p<0,05$), что было сопоставимо с введением серотонина интактным животным. ЭМГ под воздействием препарата увеличивалась с 0,92 ± 0,11 мВ до 1,15 ± 0,1 мВ (25%, $p<0,05$).

Введение серотонина на фоне продолжающегося действия комбинации адрено-, холиноблокаторов и RS 39604 вызывало повышение гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки: перед введением серотонина оно составляло 8,19 ± 0,52 мм рт.ст., после введения серотонина давление

составило 11,09 ± 0,43 мм рт.ст. (35,4%, p<0,05). Электрическая активность также повысилась с 0,92 ± 0,11 мВ до 1,3 ± 0,09 мВ (41,3%, p<0,05).

Полученные в этой серии экспериментов факты свидетельствуют о том что 5-HT_4-рецепторы локализованы не на гладкомышечных клетках кишки, апреимущественно на мембранах нейронов ганглиев, так как стимуляторный эффект не выключался блокадой 5-HT_4-рецепторов. Суммарные результаты пяти серий экспериментов с введением серотонина на фоне серотониноблокаторов представлены в табл. 3.6.

Таблица 3.6 Реакции двенадцатиперстной кишки на введение серотонина (0,1 мг/кг) на фоне действия блокаторов серотонинорецепторов различных типов

Название препарата	Фон до введения блокаторов (мм рт.ст.)	Результат введения блокаторов (мм рт.ст.)	Фон до введения серотонина (мм рт.ст.)	Результат введения серотонина (мм рт.ст.)	Прирост гидростати-ческого давления (%)
Миансерин – блокатор $5HT_{1D, 2A, 2C, 3, 6, 7}$-рецепторов	8,16 ± 1,25	8,11 ± 1,68 0,6%, p>0,1	8,11 ± 1,68	8,21 ± 2,08	1,2%, p>0,1
NAS-181 – блокатор $5HT_{1b}$-рецепторов	8,03± 1,09	8,13 ± 1,24 1,2%, p>0,1%	8,12 ± 1,43	17,35± 1.14	113,7%, p<0,05
SB 204741 – блокатор $5HT_{2b}$-рецепторов (0,1 мг/кг)	8,05 ± 1,21	8,49 ± 1,31 5%, p>0,05	8,3±2,91	8.23± 1,55	0,8%, p>0,1
MDL 72222 – блокатор $5HT_3$-рецепторов	8,32 ± 1,24	8,03 ± 1,32 3,5%, p>0,05	8,03 ± 1,32	12,21±2,14	52,1%, p<0,05
RS 39604 – блокатор $5HT_4$-рецепторов	8,14 ± 1,04	11,21 ± 0,93 37,7%, p<0,05	8,19 ± 0,52	11,09 ± 0,43	35,4%, p<0,05

Результаты пяти серий экспериментов с блокаторами серотониновых рецепторов различных типов, представленные в табл. 3.6, свидетельствуют о том, что на мембранах ганглионарных нейронов находятся $5HT_{1b}$- , $5HT_3$- и $5HT_4$-рецепторы, блокада которых не предотвращает развития стимуляторного влияния серотонина на внутрикишечное давление и электромиограмму гладких мышц кишки, а $5HT_{2b}$-рецепторы локализуются на мышцах, так как блокада этих рецепторов предотвращает развитие стимуляторного влияния серотонина на сокращение гладких мышц кишки.

3.5. Роль серотонина в развитии экспериментальной модели синдрома целиакии

В патогенезе целиакии ведущую роль играют нарушения всасывания вследствие иммунной агрессии против слизистой оболочки тонкой кишки и структуры ее ворсинок, поддержание которой обеспечивается плотным контактом эпителиоцитов с базальной мембраной с участием протеогликанов и фибронектина. Разрушение глюкозаминогликанов, индуцируемое Т-лимфоцитами и продуцируемыми ими цитокинами, приводит к атрофии ворсинок. В механизме действия Т-клеток может участвовать γ-интерферон, влияющий на пролиферацию эпителия и повреждающий энтероциты (Парфенов А.И., 2007; McDevitt J. et al., 1995; Freeman H.J., 2008). Серотонин, активируя серотонинорецепторы, тормозит вызванную интерфероном-γ экспрессию макрофага La. Специфический синтез и захват серотонина макрофагами из экстрацеллюлярной жидкости составляет важный элемент регуляции серотонином состояния пролиферации эпителия ворсинок.

При патологии тонкой кишки нарушаются сигнальные пути серотонина, изменяется его содержание и увеличивается доступность серотонина серотонинорецепторам при снижении обратного захвата. Нарушение этих

процессов может вызвать явления дисмоторики при воспалительном заболевании кишечника, что, по-видимому, связано с потерей чувствительности серотонинорецепторов. Энтероэндокринные клетки, соотношение которых при патологии может меняться, содержат 5-НТ и многочисленные пептиды, регулирующие в физиологических концентрациях моторную, секреторную и сенсорную активность кишечника. Избыток серотонина удаляется из синаптической щели с помощью молекулы серотонинтранспортера (SERT) (Linden D.R. et al., 2003; O'Hara J.R. et al., 2004).

Роль серотонина в развитии целиакии остается недостаточно выясненной, требует изучения характер течения целиакии в условиях гиперсеротонинемии, в связи с чем мы провели эксперимент по моделированием синдрома целиакии с предварительным введением серотонина и без него.

Фоновая ЭМА тонкой кишки характеризовалась медленноволновой активностью с частотой 15,1±1,3 в мин и амплитудой 0,18±0,02 мВ; наблюдалась спайковая активность частотой 0,72±0,03 и амплитудой 0,09±0,01 мВ.

После введения пикрилсульфоновой кислоты в полость тонкой кишки частота медленных волн ЭМА уменьшилась с 15,1±1,3 до 10,5±1,15 в мин (30,5%, $p<0,05$), амплитуда медленных волн уменьшилась с 0,18±0,02 мВ до 0,1±0,02 мВ (44,4%, $p<0,05$). Спайковая активность выявлялась в половине экспериментов, и ее частота составила 0,5±0,04 (30,6%, $p<0,05$) и амплитуда - 0,05±0,01 мВ (44,3%, $p<0,05$). Спустя 10 дней после создания модели частота медленных волн ЭМА снижалась до 7,0±0,05 в мин (33,3%, $p<0,05$). Таким образом, экспериментальная целиакия сопровождается снижением амплитудно-частотных характеристик медленноволновой и спайковой ЭМА.

Введение пикрилсульфоновой кислоты на фоне действия серотонина сопровождается менее выраженным снижением амплитудно-частотных

характеристик ЭМА тонкой кишки: частота медленных волн ЭМА уменьшилась с 15,1±1,3 до 13,0±1,2 в мин (13,8%, $p<0,05$). Спустя 10 дней после создания модели частота медленных волн ЭМА увеличилась до 14,3±1,6 в мин (3,6%, $p<0,05$), однако не достигала нормальных значений. То есть, серотонин тормозит снижение электромоторной активности тонкой кишки при экспериментальной целиакии.

Ткань тонкой кишки при повреждении пикрилсульфоновой кислотой характеризовалась уплощением ворсинок, гиперплазией и расширением просвета крипт, снижением высоты энтероцитов, лимфоцитарной инфильтрацией собственной пластинки и увеличением числа межэпителиальных лимфоцитов (рис. 3.22, 3.23).

Рис 3 22 Тонкая кишка крысы при экспериментальной целиакии Уменьшение высоты ворсин, углубление крипт, лимфоидноклеточная инфильтрация подслизистого слоя и ворсин Окраска гематоксилином и эозином Ув х 250

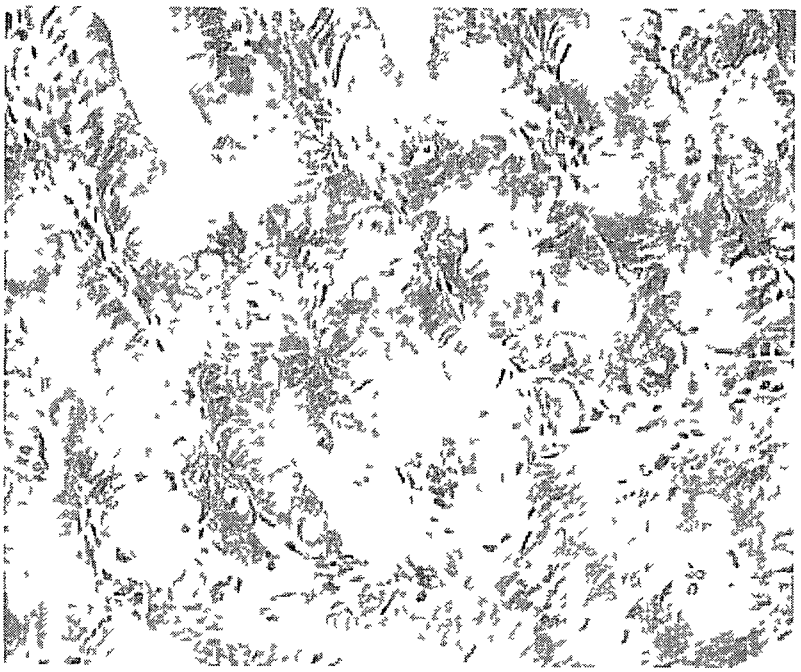

Рис 3 23 Тонкая кишка крысы при экспериментальной целиакии Расширение просвета крипт Окраска гематоксилином и эозином Ув х 250

Ткань тонкой кишки при экспериментальной целиакии, протекающей на фоне серотонина, характеризовалась сохранением высоты ворсинок и глубины крипт, сохранением высоты энтероцитов; снижением выраженности лимфоцитарной инфильтрацией собственной пластинки и уменьшением числа межэпителиальных лимфоцитов (рис. 3.24). Таким образом, введение серотонина способствует меньшему изменению амплитудно-частотных характеристик ЭМА тонкой кишки, что свидетельствует о интестинопротективном влиянии серотонина даже в условиях моделирования синдрома целиакии. Морфологические данные подтверждают протективное действие серотонина на структурно-функциональные характеристики стенки кишки.

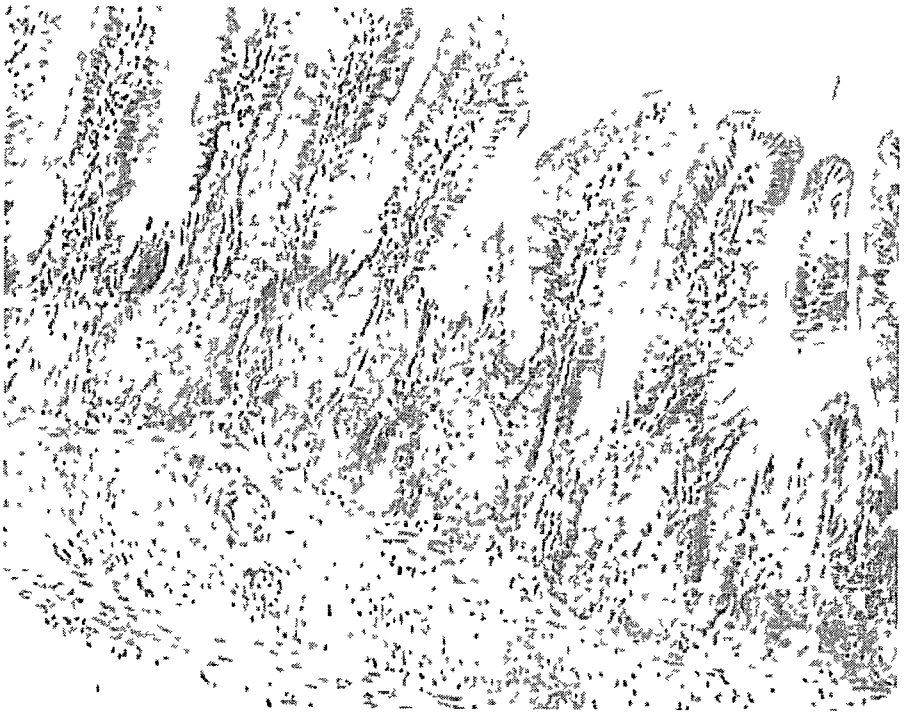

Рис 3 24 Тонкая кишка крысы при экспериментальной модели синдрома целиакии на фоне введения серотонина Сохранение высоты ворсинок и глубины крипт, сохранение высоты энтероцитов, снижение выраженности лимфоцитарной инфильтрации собственной пластинки Окраска гематоксилином и эозином Ув Х 250

Глава 4. Обсуждение результатов

Ряд авторов (Смирнов В.М., Свешников Д.С., Мясников И.Л., Лычкова А.Э.; 1986-2010) показал, что в организме, кроме симпатического (адренергического) и парасимпатического (холинергического) отделов вегетативной нервной системы имеется и серотонинергический отдел. В опытах цитированных авторов стимуляторный ответ двенадцатиперстной кишки, возникающий при раздражении серотонинергического нерва (его волокна идут в составе симпатического ствола), устранялся предварительным введением блокаторов 5НТ-рецепторов. Однако, какого типа серотонинорецепторы обеспечивают передачу сигнала на нейроны вегетативных ганглиев, какого – на гладкие мышцы двенадцатиперстной кишки, оставалось неясным и требует дальнейшего изучения. Некоторые авторы (Derkach V. et al., 1989) считают, что 5-$НТ_3$-рецепторы локализуются преимущественно на нейронах вегетативных ганглиев. По мнению A. Moran et al., (1994) на нейронах вегетативных ганглиев имеются 5-$НТ_{3.4}$-рецепторы. Другие полагают, что и в вегетативных ганглиях и на гладких мышцах имеются по три-четыре типа 5НТ-рецепторов. В частности, в ганглиях вегетативной нервной системы обнаружены три подтипа серотониновых рецепторов: $5НТ_1$, $5НТ_2$, $5НТ_3$ (Fozard J., 1987, 1990; Zifa E. et al, 1992). На гладких мышцах ЖКТ выявлено четыре подтипа: $5НТ_1$, $5НТ_2$, $5НТ_3$, $5НТ_4$ (Zifa E. et al, 1992). Данные подтипы серотонинорецепторов локализуются на гладких мышцах пищевода крысы, кролика и собаки, активация $5НТ_4$-рецепторов гладких мышц вызывает их расслабление (Cohen M. et al., 1994).

Кроме того, для более убедительного доказательства существования серотонинергического отдела вегетативной нервной системы необходимо было проверить, возникают ли такие же стимуляторные реакции двенадцатиперстной кишки на введение в организм серотонина, как и при раздражении серотонинергического нерва.

Хорошо изучены механизмы разнонаправленных влияний блуждающего и симпатического нервов на функции внутренних органов. Например, блуждающий нерв стимулирует, а симпатический тормозит моторику кишки. Известны также феномены двоякого влияния симпатического и парасимпатического нервов на один и тот же орган. Так, основное влияние блуждающего нерва на моторику желудочно-кишечного тракта - усиление его деятельности, но этот же нерв в определенных условиях может оказывать и тормозное влияние (Смирнов В.М., 2000; Смирнов В.М., Иванченко Л.М., 1990, 1998). Симпатический нерв, кроме тормозного, оказывает выраженное стимуляторное влияние на моторику двенадцатиперстной кишки (Смирнов В.М. и др., 1998; Смирнов В.М. и др., 1999).

В настоящей работе изучалась структурная организация серотонинергического нерва, стимулирующего сокращение гладких мышц двенадцатиперстной кишки. Ранее, в работе А.Э. Лычковой (2004) было показано, что выраженность электромоторной активности двенадцатиперстной кишки увеличивается при раздражении блуждающего нерва, а раздражение серотонинергических волокон симпатического ствола на фоне стимуляции блуждающего нерва приводит к дополнительной активации моторики двенадцатиперстной кишки.

Совместное раздражение блуждающего нерва и серотонинергических волокон симпатического ствола приводит к однонаправленному стимуляторному влиянию на электромоторную активность двенадцатиперстной кишки, что коррелирует с высоким содержанием серотонина и АХ в ткани восходящего отдела двенадцатиперстной кишки (Лычкова А.Э., 2004). Исследование возможного участия серотонинорецепторов в реализации данного феномена показало, что блокада серотонинорецепторов миансерином полностью предотвращает изучаемый эффект в восходящем отделе двенадцатиперстной кишки.

Таким образом, эффект усиления серотонинергическими волокнами симпатического ствола вагусной стимуляции ЭМА двенадцатиперстной кишки реализуется при раздражении периферического отрезка блуждающего нерва и симпатического ствола на уровне 5-6 шейных позвонков посредством активации серотонинергических нервных волокон.

Аналогичные результаты в отношении моторики тощей кишки были получены и при исследовании механизма осуществления активации пищевой моторики (Лычкова А.Э., Савчук В.И., Смирнов В.М., 2003). Механизмы осуществления стимуляторного влияния серотонина на моторную активность двенадцатиперстной кишки исследовали в условиях блокады холинергических, адренергических и серотонинергических нервов.

Основываясь на данных литературы, В.М. Смирнов и соавторы (1986–2010 гг) полагали, что в ганглиях локализуются преимущественно $5HT_{3,4}$-рецепторы, а на гладких мышцах – $5HT_{1,2}$-рецепторы.

В.М. Смирнов и соавторы (1986-2010) наблюдали при раздражении симпатического нерва главным образом (65 % животных) не угнетение, а усиление сокращений двенадцатиперстной кишки. Стимуляторный эффект полностью выключался блокаторами $5HT_{1,2}$-рецепторов, блокаторами $5HT_{3,4}$-рецепторов, что свидетельствует о наличии в организме серотонинергического нерва. Это понятие собирательное, как и симпатический нерв - множество стволиков и веточек, иннервирующих внутренние органы. Однако в этих опытах и блокада 5НТ-рецепторов нейронов вегетативных ганглиев, и 5НТ-рецепторов гладких мышц должна была устранять стимуляторный эффект двенадцатиперстной кишки, поскольку они раздражали преганглионарные серотонинергические нервные волокна (Рис. 4.1).

В этих и других опытах получены убедительные доказательства наличия в составе симпатических стволов большого количества серотонинергических нервных волокон, но не показано, какого типа 5НТ-рецепторы локализуются на нейронах вегетативных ганглиев, какого – на гладких мышцах.

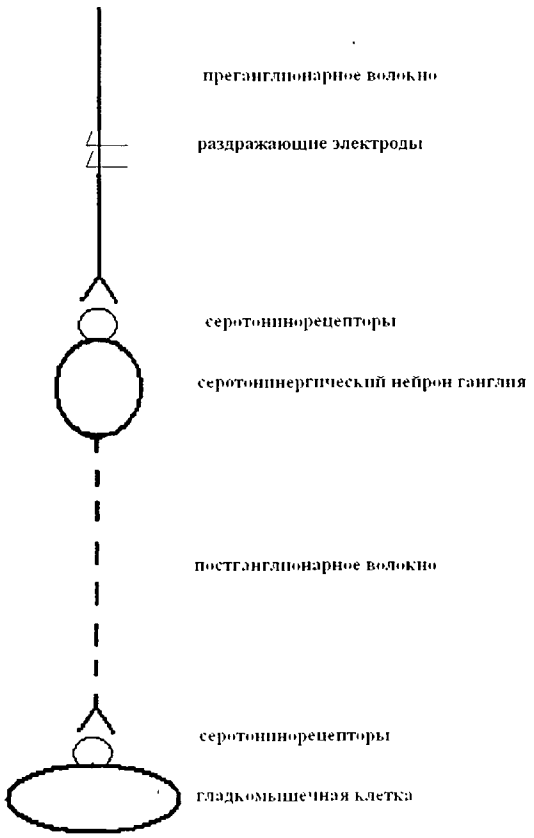

Рис. 4.1. Схема постановки опыта доказывающего наличие серотонинергического нерва (опыты В. М. Смирнова и соавторов).

Главной задачей наших исследований было изучение именно этого вопроса. Можно предположить, что серотонин реализует свое влияние на сокращения двенадцатиперстной кишки, действуя непосредственно на мышцы органа и посредством активации нейронов вегетативных ганглиев; при этом постганглионарные волокна должны высвобождать серотонин, который усиливает сокращения мышечных волокон.

В первую очередь необходимо было выяснить, вызывает ли экзогенный серотонин такие же стимуляторные реакции двенадцатиперстной кишки, как и раздражение серотонинергического нерва.

Для решения этого вопроса вначале необходимо было избрать надежный способ регистрации двигательной активности двенадцатиперстной кишки, обеспечивающий запись даже слабовыраженных реакций органа на введение в

организм подопытных животных различных доз серотонина у интактных животных.

О сократительной деятельности кишки судили по ЭМГ, которая в последние годы используется очень часто и хорошо отработана (Попова Л.М., 1980; Кромин А.А., 2010). Некоторые авторы (Попова Л.М., 1980; Смирнов В.М. и соавт; 2009) успешно использовали для этой цели баллонографическую методику с датчиками высокой чувствительности (ЕМТ-30).

Кроме того, с целью получения более надежных результатов, решили использовать параллельно с регистрацией ЭМГ и регистрации гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки (МГ). Использованная нами методика регистрации гидростатического давления в полости двенадцатиперстной кишки была весьма чувствительной - даже очень слабое прикосновение к коже живота животного улавливалось датчиками давления и регистрировалось на компьютере.

Результаты наших исследований подтвердили предположение о целесообразности использования двух способов регистрации двигательной активности двенадцатиперстной кишки. Причем, оказалось, что «баллонографический» метод более надежный, чем электромиографический.

Таким образом, для суждения о сократительной деятельности внутреннего полого мышечного органа лучшим способом является регистрация гидростатического давления в его полости с помощью современной электронной аппаратуры, либо – сочетание ЭМГ и МГ.

Что касается способов введения в организм экзогенного серотонина для получения стимуляторного эффекта двенадцатиперстной кишки, самые простые – внутримышечный, подкожный или внутрибрюшинный. Однако данные способы в наших опытах исключались, так как медленно развивающиеся реакции двенадцатиперстной кишки по мере всасывания

серотонина, несопоставимы с быстрыми эффектами, возникающими при раздражении нерва. Поэтому в первых опытах серотонин вводили внутривенно.

При внутривенном способе введения серотонина мы также обнаружили весьма важный и нежелательный в эксперименте факт – для получения стимуляторного эффекта двенадцатиперстной кишки необходимо было вводить очень большие дозы серотонина (0,2 г/кг), но и при такой дозе стимуляторный эффект отсутствовал или был слабо выражен. С нашей точки зрения, это объясняется тем, что серотонин связывается с серотонинорецепторами различных органов организма – особенно печенью и легкими, а также разрушается. Поэтому решили вводить серотонин внутриартериально, что исключало выявленные нами недостатки.

Серотонина адипинат в различных концентрациях вводили внутриартериально еще и для того, чтобы минимизировать воздействие его на системную гемодинамику. Поскольку сосуды малого круга, а также различные структуры сердца содержат серотониновые рецепторы различных типов, их активация обусловливает развитие прямых и рефлекторных реакций, приводящих к изменениям системного артериального давления (MacLean M.R. et al, 2009, McKenzie C. et al., 2010), что является нежелательным при изучении моторной деятельности двенадцатиперстной кишки и кишечника, поскольку изменения гемодинамики способны существенным образом сказываться на фоновой моторике.

Внутриартериальное введение серотонина, безусловно, активирует серотонинорецепторы аорты и ее ветвей, при этом развиваются и иные, менее выраженные системные эффекты (Zhang B. et al, 2008), но при этом, как показано J.A. Lopez et al. (1989), серотонин не оказывал существенного влияния непосредственно на просвет мезентериальных сосудов. Воздействие на серотонинорецепторы синокаротидной зоны и дуги аорты, способное вызывать рефлекторные изменения гемодинамики (Dvorakova M.C. et al., 2005), предотвращалось двусторонним пересечением блуждающих и языкоглоточных

нервов на шее. Таким образом, использование нашего экспериментального подхода ограничивает действие серотонина на системный кровоток и повышает надежность получаемых результатов.

При подборе оптимальной дозы серотонина использовали три дозы - 0,05, 0,1 и 0,15 мг/кг веса (McKenzie C. et al., 2010) - избрали 0,1 мг/кг, поскольку при дозе 0,05 мг/кг стимуляторный эффект был небольшой - прирост давления в полости двенадцатиперстной кишки составлял 13%, при дозе 0,1 мг/кг стимуляторный эффект был хорошо выражен и составлял 22,6%, а стимуляторное слияние серотонина в дозе 0,15 мг/кг веса существенно не отличалось от такового при дозе 0,1 мг/кг. В этих же экспериментах обнаружился еще один новый факт - в большинстве опытов малые дозы серотонина (0,05 мг/кг) вызывают не усиление, а угнетение сокращений двенадцатиперстной кишки.

С нашей точки зрения, малые дозы серотонина вызывают угнетение сокращений кишки потому, что на симпатических (адренергических) терминалях имеются пресинаптические серотонинорецепторы (Purohit A. et al., 2003; MacLean M.R., Dempsie Y., 2009, McKenzie C. et al., 2010). Мы полагаем, что их чувствительность к серотонину выше, чем у постсинаптических серотонинорецепторов, локализующихся на гладкомышечных волокнах. Поэтому малые дозы серотонина активируют пресинаптические серотонинорецепторы адренергических окончаний, что ведет к высвобождению норадреналина и к расслаблению гладких мышц двенадцатиперстной кишки.

Более высокие дозы серотонина активируют и постсинаптические серотонинорецепторы. При этом прямое действие серотонина преобладает над опосредованным – тормозным, что ведет к сокращению мышц двенадцатиперстной кишки.

При изучении роли различных типов серотонинорецепторов в усилении сокращений двенадцатиперстной кишки на введение в организм серотонина подопытным животным сначала вводили блокаторы адрено- и

холинорецепторов (доксазозин, пропранолол, пентамин и бускопан), затем на фоне их действия вводили серотонин, что повышало надежность наших результатов, поскольку в экспериментах получали чисто серотонинергический эффект.

В опытах обнаружили, что серотонин усиливал моторику двенадцатиперстной кишки у этих крыс значительно больше (на 100,8 %), чем у интактных животных (на 22,6%), т.е. какие-то адрено- и холинорецепторы препятствуют стимуляторному влиянию серотонина на сокращения двенадцатиперстной кишки. Естественно необходимо было изучить какие же интактные адрено- и холинорецепторы препятствуют действию серотонина. Эти результаты оказались для нас совершенно неожиданными.

Изучение этого вопроса начали с исследования роли холинергических механизмов в усилении сокращений двенадцатиперстной кишки под действием вводимого в организм серотонина.

Первые две серии данных опытов поставили с блокадой N-холинорецепторов пентамином и блокадой М-холинорецепторов бускопаном. На фоне действия этих блокаторов стимуляторный эффект на введение серотонина был значительно больше (на фоне действия пентамина - блокатора М-холинорецепторов (+58,5%), бускопана - блокатора М- холинорецепторов (+32,8%), чем при интактных холинорецепторах (+22,6%). При этом пентамин сам по себе снижал сокращения двенадцатиперстной кишки (-25,7%).

Таким образом, оказалось, что холинергические механизмы не усиливают действие экзогенного серотонина, а, напротив, препятствуют этому, что также было неожиданным и пока не ясным фактом. По-видимому, серотонин активирует интактные холинергические нейроны, а они действуют на тормозные адренергические или ВИП-ергические нейроны, что и снижает эффект действия серотонина, вводимого в организм подопытных животных.

Затем изучили роль адренергических механизмов в реализации стимуляторного влияния экзогенного серотонина на сокращения

двенадцатиперстной кишки. Результаты опытов показали, что блокада α- и β-адренорецепторов порознь или совместно значительно усиливала сократительный эффект двенадцатиперстной кишки на последующее введение серотонина. Причем, наиболее значительное усиление сокращений двенадцатиперстной кишки наблюдалось при введении серотонина на фоне действия блокатора (β-адренорецепторов пропранолола (на 121%, без фармакологических препаратов - +22,6%).

В условиях блокады α-адренорецепторов доксазозином стимуляторный эффект серотонина составлял 44,6%, на фоне действия проксодолола - блокатора α- и β-адренорецепторов - 30,8%. Мы полагали, что стимуляторный эффект будет суммироваться, а в действительности он уменьшился. Данный феномен интересен и важен, но не понятен. Важность этого феномена заключается в том, что в настоящее время серотонин используется в клинической практике (Симоненков А.П. с соавт., 2003), так, например, Синенченко Г.И. с соавт. (2006) для восстановления моторики ЖКТ у пациентов при послеоперационном парезе кишечника.

Наши данные показывают, что стимуляторный эффект был бы в 2-3 раза больше в случае применения серотонина в условиях блокады β-адренорецепторов. Мы полагаем, что более слабое стимулирующее действие серотонина на сокращения двенадцатиперстной кишки при интактных адренорецепторах объясняется наличием пресинаптических серотонинорецепторов на симпатических (адренергических) нервных окончаниях.

По-видимому, вводимый в организм серотонин активирует не только 5-НТ-рецепторы серотонинергических нейронов и гладких мышц, но и пресинаптические серотонинорецепторы симпатических нервов, активация которых ведет к высвобождению норадреналина, который угнетает сокращения гладких мышц внутренних органов. Но прямое стимулирующие действие серотонина на гладкие мышцы оказывается сильнее.

Более сильный стимуляторный эффект серотонина в условиях блокады β-адренорецепторов является результатом того, что блокада β-адренорецепторов сама по себе вызывала появление ярко выраженной перистальтики у 57% животных, несмотря на снижение тонуса кишки.

Результаты наших исследований показали, что адрено- и холинергические механизмы препятствуют стимуляторному влиянию серотонина на двенадцатиперстную кишку. Поэтому дальнейшие исследования провели в условиях одновременной предварительной блокады адрено- и холинорецепторов, что обеспечивало получение более надежных результатов при введении серотонина (в экспериментах получали чисто серотонинергические эффекты) - результат только непосредственного действия серотонина на 5-НТ-рецепторы серотонинергических нейронов вегетативных ганглиев и гладких мышц кишки.

Исследование локализации различных типов 5-НТ-рецепторов на нейронах вегетативных ганглиев или на гладких мышцах кишки проводили следующим образом. В начале каждого опыта изучали эффекты действия только серотонина в дозе 0,1 мг/кг - без каких-либо других фармакологических препаратов, кроме наркоза. Спустя две минуты после получения стимуляторных реакций и окончания их, одновременно вводили адрено- и холиноблокаторы (доксазозин, пропранолол, пентамин и бускопан). Перечисленные препараты вводили отдельными инъекциями в подкожную клетчатку конечностей. Затем через 10 минут вновь исследовали реакции двенадцатиперстной кишки на серотонин и убеждались, что он вызывает более выраженный стимуляторный эффект. Спустя 5 минут после окончания этих реакций производили внутриартериальную инъекцию блокатора определенного типа 5-НТ-рецепторов, после чего (спустя еще 5 минут) вводили серотонин в той же дозе. Подобная подготовка обеспечивала получение более надежных результатов.

Поскольку в наших опытах серотонин циркулировал в крови по всему организму и действовал одновременно и на 5-НТ-рецепторы гладких мышц, и нейронов вегетативных ганглиев, то о типе 5-НТ-рецепторов судили по препарату, который блокировал 5-НТ-рецептор. Предварительная блокада серотонинорецепторов гладких мышц должна устранять стимуляторный эффект двенадцатиперстной кишки на введение серотонина. Селективная же блокада серотонинорецепторов только нейронов вегетативных ганглиев не должна устранять влияние серотонина на рецепторы гладких мышц двенадцатиперстной кишки, поэтому введение в организм серотонина в этих условиях должно вызывать сокращение двенадцатиперстной кишки.

В первой серии экспериментов по изучению роли различных типов 5-НТ-рецепторов в регуляции сокращений двенадцатиперстной кишки, полагали, что предварительное введение в организм неселективного блокатора всех 5-НТ-рецепторов миансерина полностью устранит усиление сокращений двенадцатиперстной кишки на последующую инъекцию серотонина, что мы и наблюдали. При этом сделать вывод о локализации 5-НТ-рецепторов на нейронах или гладких мышцах нельзя.

В дальнейших опытах, во-первых, установили, что введение в организм серотонина в условиях блокады 2-го типа серотонинорецепторов не вызывает обычного усиления сокращений двенадцатиперстной кишки, что свидетельствует о преимущественном расположении $5HT_{2b}$-рецепторов на мышечных волокнах

Во-вторых, подобные опыты с блокадой 1-го, 3-го и 4-го типа серотонинорецепторов показали, что $5HT_{1,3,4}$-рецепторы локализуются на нейронах вегетативных ганглиев двенадцатиперстной кишки.

Таким образом, мы впервые установили, что преганглионарные серотонинергические нервные волокна образуют синапсы на ганглионарных нейронах с помощью $5\text{-}HT_{1,3,4}$-рецепторов, на миоцитах двенадцатиперстной кишки - посредством $5HT_{2b}$-рецепторов (рис. 4.2.).

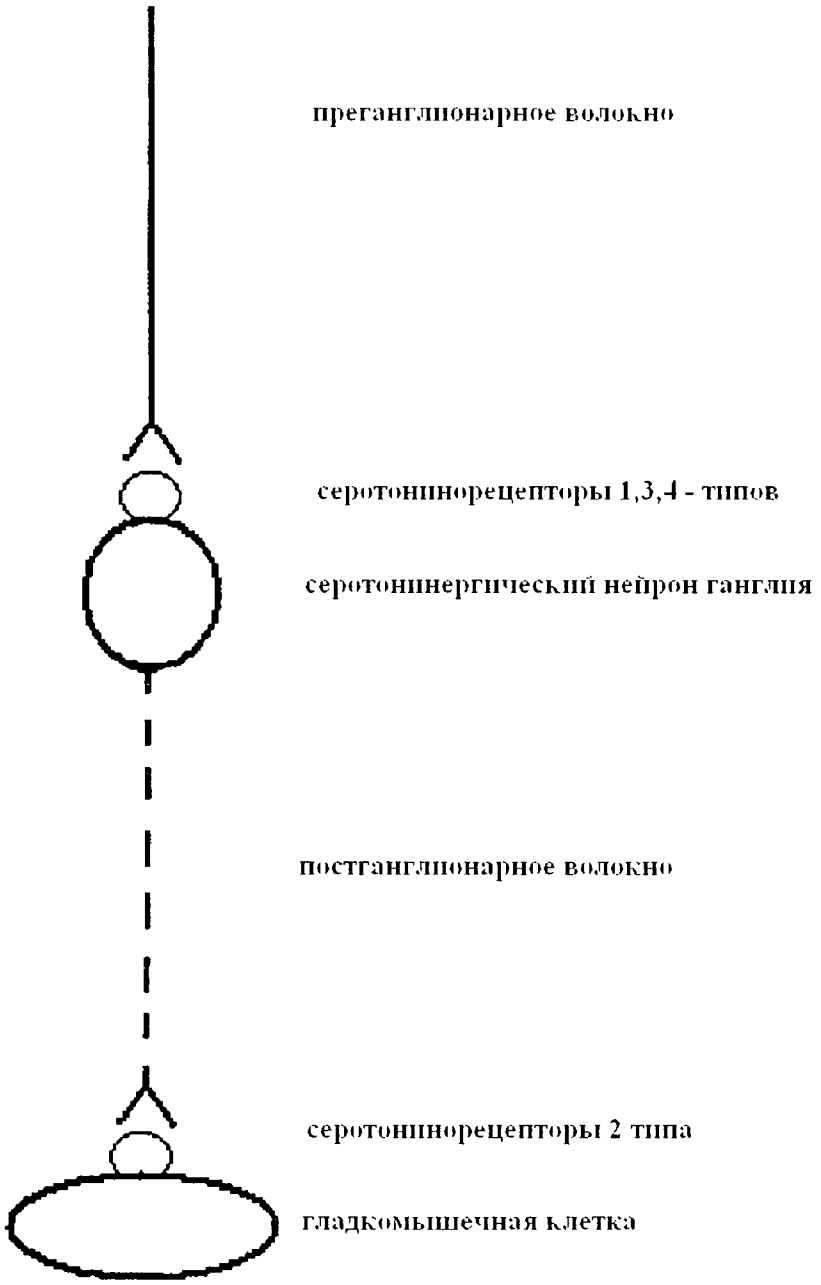

Рис. 4.2 Схема, иллюстрирующая локализацию 5-НТ-рецепторов в серотонинергическом нерве и на мышечных волокнах.

Следует также отметить, что серотонин играет важную роль в регуляции функции внутренних органов, поэтому нарушение секреции его может сопровождаться развитием патологических процессов. Так, Н.С. Тропская (2005) исследовала в хронических экспериментах на крысах на модели

послеоперационного илеуса – влияние серотонина и $5HT_4$-агониста цизаприда на электрическую активность желудка и тонкой кишки. Показано, что при послеоперационном илеусе происходит исчезновение мигрирующего миоэлектрического комплекса желудка и тонкой кишки.

И.Е. Трубицына (2006) показала в экспериментах на животных и в исследованиях на людях, что процесс язвообразвоания в желудке был разделен на периоды деструкции и рубцевания. В период деструкции повышение серотонина в часовые сроки осуществляется за счет выброса серотонина из синапсов, в последующем из тучных и ЕС-клеток, которые активированы ацетилхолином. Повышение ацетилхолина в период рубцевания контролирует высвобождение серотонина.

А.Э. Лычкова (2008) моделировала пилоростеноз и панкреатит до и в условиях предварительного введения серотонина и блокатора $5HT_2$-рецепторов спиперона. Показано, что активация серотонинергической системы препятствует развитию панкреатита, но способствует более тяжелому течению пилоростеноза.

X.L. Sun et al. (2004) обследовали 89 пациентов с пептическими язвами и 50 здоровых людей (контрольная группа). У пациентов с пептическими язвами было больше отрицательных эмоций и другая манера их выражения. Концентрация 5HT в тромбоцитах при пептических язвах была значительно ниже, чем в контрольной группе.

В наблюдениях Ю.В. Пошехоновой (2003) обследовано 118 детей с функциональной диспепсией в возрасте от 5-ти до 15-ти лет. Группу сравнения составили 45 детей с хроническим гастродуоденитом соответствующего возраста. У всех больных с функциональной диспепсией отмечено повышение уровней гистамина и серотонина в плазме крови.

Высокие уровни в плазме крови серотонина отмечены при дискинетическом и неспецифическом вариантах функциональной диспепсии, которые характеризовались болями в животе умеренной и малой

интенсивности; преходящей гиперемией антрального отдела слизистой оболочки желудка и дуоденогастральными рефлюксами; нарушениями желудочной секреции со снижением стимулированной фазы.

В настоящее время исследуется также целебное действие серотонина. Так, авторы (Симоненков А.П. с соавт., 1995, 2003) считают, что одной из причин дисфункции гладкой мышцы является синдром серотониновой недостаточности.

В норме происходят периодические сокращения и расслабления гладкой мускулатуры микроциркуляторного русла, необходимые для поддержания нормального тканевого обмена. В литературе они получили названия "эндогенная вазомоторика", "вазомоция", "вазомоторная активность", "перистальтика сосудов", "миогенная регуляция тонуса микрососудов" (Ноздрачев А.Д., 1997; Симоненков А.П. с соавт., 2002; Шмидт Р., Тевс Г., 2004).

Вазомоция сохраняется при денервации, она осуществляется следующим образом: серотонин, вырабатываемый энтерохромаффинными клетками ЖКТ, адсорбируется тромбоцитами, которые, проходя через микрососуды, высвобождают серотонин, который активирует серотониновые рецепторы гладких мышц, что ведет к их сокращению (Симоненков А.П. с соавт., 1995, 2002).

Введение серотонина адипината у больных с критической ишемией в Институте хирургии им. А.В. Вишневского РАМН, в клиническом госпитале им. Н.Н. Бурденко, Москва (Симоненков А.П., Федоров В.Д.и др., 2004), а также в клиниках Харьковского и Курского медицинских университетов подтвердило улучшение эндогенной вазомоторики, проявившееся снижением тканевой гипоксии и улучшением репаративных процессов в ранах и язвах (Лазаренко В.А. с соавт., 2001; Хаджиев О.Ч. с соавт., 2000; Симоненков А.П. с соавт., 1995).

В литературе появляются сведения о так называемой серотониновой недостаточности. Установлено, что при взаимодействии серотонина с серотонин-реактивными структурами гладких мышц происходит сокращение гладкой мускулатуры. Действие серотонина на гладкую мускулатуру ослабляется лекарственными препаратами, являющимися его антагонистами, в результате чего и возникает гладкомышечная недостаточность. Восстановление перистальтики кишечника у больного с функциональной кишечной непроходимостью под действием серотонина адипината происходило непосредственно во время введения препарата, которое сопровождалось отхождением газов и каловых масс (Симоненков А.П. с соавт., 2003).

В норме концентрация серотонина в крови колеблется в широких пределах от 20 до 300 мкг/л (Меньшиков В.В., 1987). При возрастной и патологической деградации серотониновых рецепторов гладкой мускулатуры, количество циркулирующего в крови серотонина становится недостаточным для того, чтобы поддерживать функцию гладкой мышцы в физиологических параметрах, т.е. в стареющем организме также возникает относительная серотониновая недостаточность. При внутривенном введении серотонина адипината со скоростью 510 мкг/ч происходило уменьшение исходной тканевой гипоксии, о чем свидетельствовало возрастание содержания внутритканевого кислорода в среднем более чем на 50%, которое в единичных случаях даже достигало нормальных величин.

Эндолимфатическая инфузия серотонина адипината является эффективным средством в борьбе с послеоперационным парезом кишечника. Аллергических реакций и побочных отрицательных действий на введение препарата не было отмечено (Синенченко Г.И. с соавт., 2006).

Таким образом, физиологическое, патофизиологическое и целебное действие серотонинергической нервной системы и экзогенного серотонина, вводимого в организм, в последние 20-30 лет изучается весьма активно. Мы получили новые фундаментальные данные о структурно-функциональной

организации серотонинергического нерва, усиливающего сокращения двенадцатиперстной кишки, которые важны для проведения дальнейших исследований и, возможно, - для практической медицины.

Роль серотонина в развитии экспериментальной модели синдрома целиакии

По данным ряда популяционных скрининговых исследований, проведенных в Европе и США, целиакию имеет каждый 150-й житель. Целиакия является хроническим воспалением слизистой тонкой кишки, вызванным непереносимостью глютена. При целиакии развиваются симптомы и морфологические изменения, причем последние являются «золотым стандартом» ее диагностики. Характерными для целиакии симптомами являются:

хроническая диарея,

синдром нарушенного всасывания,

субтотальная атрофия ворсинок тонкой кишки,

гиперплазия крипт слизистой оболочки тонкой кишки,

восстановление морфологической картины после исключения из рациона глютена.

Синдром нарушенного всасывания, наблюдающийся при целиакии, характеризуется задержкой роста, потерей веса, развитием отека и трофических расстройств. В отсутствие лечения целиакия не только значительно ухудшает качество жизни, но и может вызывать злокачественные новообразования лимфатических узлов и кишечника, например, в виде лимфомы.

В патогенезе развития целиакии выделяют:

Ферментативный фактор.

Лектиновый фактор,

Повышение проницаемости слизистой оболочки тонкой кишки (Парфенов А.И., 2007),

Серотониновый фактор.

Ферментативный фактор в патогенезе целиакии частично подтвердили L. Shan и соавт. (2002), обнаружив короткий (33-mer) пептид, входящий в состав глютена, который, по-видимому, повреждает щеточную кайму мембран эпителия тонкой кишки и вызывает воспалительный ответ у пациентов, предрасположенных к целиакии.

Лектиновый фактор. Глютен или его фракции, по-видимому, могут присоединяться к измененным лектинами гликопротеидам поверхностных клеточных мембран и действовать как токсический лектин. Это приводит к гибели эпителиальных клеток ворсинок и вызывает ускорение клеточного обновления (Goggins M.A., 1994; Wieser H., 1995). Согласно этой гипотезе, первичная причина повреждающего действия глиадина заключается в дефектах синтеза гликопротеидов в клеточной мембране энтероцитов. Предполагалось, что измененные гликопротеиды, с которыми связывается глютен, образуются вследствие нарушения функции этих ферментов. Связывание глютена с поврежденными или неполноценными гликопротеидами энтероцитов может нарушать проницаемость и транспортную функцию мембран.

Роль повышенной проницаемости слизистой оболочки тонкой кишки. Проницаемость слизистой оболочки тонкой кишки у больных нелеченной целиакией повышена, что приводит к попаданию в кровь молекул некоторых дисахаридов, ^{57}Co-цианкобаламина и других веществ. Глютен в большом количестве может проникать в слизистую оболочку, повреждая лизосомы энтероцитов и вызывая их гибель. Проницаемость кишки увеличена у больных, не соблюдавших диету, постепенно уменьшаясь при соблюдении диеты. Проницаемость кишечного барьера увеличивалась в условиях пищевой провокации глютеном (Stenhammar L. et al., 1989).

Серотониновый фактор. Серотонин находится в энтеральных нервных волокнах и энтерохромаффинных ЕС-клетках тонкой кишки. ЕС клетки располагаются в слизистой оболочке кишки; их численность достигает

максимума в двенадцатиперстной и прямой кишке. ЕС-клетки, реагируя на изменение внутрипросветного давления, химический состав пищи и активность микробиоты кишечника, высвобождают серотонин. Серотонин активирует рецепторы, экспрессируемые афферентными и миентеральными интернейронами слизистой оболочки, инициируя секрецию и двигательную активность кишки. Перераздражение нейронов интрамуральной нервной системы и ЕС- и других нейроэндокринных клеток приводит к избыточному выделению ацетилхолина, мотилина, VIP, серотонина, холецистокинина, что, в свою очередь сопровождается развитием тошноты и рвоты, диареи и запоров. Воспаление при экспериментальной целиакии сопровождается ростом численности Т-лимфоцитов, увеличением числа ЕС-клеток и содержания серотонина в слизистой, причем, провоспалительные цитокины тормозят активность другого компонента серотонинергической системы - серотонинотранспортера (SERT). Характерные для целиакии воспаление и рост инфицированности желудочно-кишечного тракта способствуют увеличению биодоступности серотонина в слизистой, объясняющемуся ростом числа ЕС-клеток и угнетением SERT. Воспалительная реакция с развитием серотонинассоциированной диареи наблюдается также при развитии СРК. Диарея при СРК купируется блокаторами 5-HT_3-рецепторов. Агонисты 5-HT_3- и 5-HT_4-рецепторов способствуют успешной терапии СРК, сочетанного с запором (Spiller R., 2008). Гиперсеротонинемия может способствовать диспепсическим явлениям при нелеченной целиакии (Coleman N.S. et al., 2006). Нарушение моторной функции ЖКТ при гиперсеротонинемии может быть обусловлено воздействием серотонина на рецепторы вагальных афферентов. Быстрый обратный захват серотонина с помощью транспортера SERT снижает периферические эффекты индоламина. Целиакия, СРК с диареей, некоторые другие заболевания желудочно-кишечного тракта, включая серотонинассоциированный карциноидный синдром сопровождаются гиперсеротониемией. (Spiller R., 2008).

Целиакия сопровождается повышенным уровнем Т-клеток и увеличенным содержанием серотонина в слизистой оболочке верхнего отдела тонкой кишки, что коррелирует с постпрандиальной диспепсией.

При целиакии отмечен ряд изменений количества эндокринных клеток в стенке кишки как, например, числа секретинсекретирующих клеток и увеличение количества клеток, содержащих холецистокинин, гастрин, мотилин и серотонин. Полагают, что изменения числа эндокринных клеток кишки могут привести к изменению процессов секреции ферментов, сопровождающихся неполным гидролизом пищевых ингредиентов, и к ускоренной эвакуации содержимого из кишечника. Это может быть причиной возникновения диареи и стеатореи, наблюдающихся при целиакии (el-Salhy M., 1998). Нелеченная целиакия характеризуется гиперплазией серотонинсодержащих эндокринных клеток желудочно-кишечного тракта человека (Moyana T.N., Shukoo S., 1991).

Дополнительным свидетельством роли серотонина в развитии целиакии является нарушение метаболизма серотонина и других моноаминов у детей с целиакией, которое может вызвать поведенческие расстройства, в частности, депрессию. Показано заметное снижение уровня предшественника серотонина - триптофана в плазме крови головного мозга детей, страдающих целиакией (Hernanz A. et al., 1991).

Анализ литературы показал, что единого мнения относительно роли серотонина в развитии целиакии не сложилось, в связи с чем нами проведены исследования, направленные на выяснение влияния серотонина на развитие экспериментальной целиакии. Модель целиакии создавали путем внутриполостного введения пикрилсульфоновой кислоты. Роль серотонина в развитии экспериментальной целиакии исследовали путем предварительного введения серотонина.

Исследования показали, что электромоторная активность участка тонкой кишки, обработанного пикрилсульфоновой кислотой, характеризовалась снижением амплитудно-частотных характеристик медленноволновой и

спайковой активности. Морфологически ткань тонкой кишки при целиакии характеризовалась уплощением ворсинок, гиперплазией крипт, снижением высоты энтероцитов, лимфоцитарной инфильтрацией собственной пластинки и увеличением числа межэпителиальных лимфоцитов.

Электромоторная активность участка тонкой кишки, обработанного пикрилсульфоновой кислотой с предварительным введением серотонина, характеризовалась (неполным) восстановлением амплитудно-частотных характеристик медленноволновой и спайковой активности. Ткань тонкой кишки при целиакии, протекающей на фоне серотонина, характеризовалась сохранением высоты ворсинок и глубины крипт, сохранением высоты энтероцитов; снижением выраженности лимфоцитарной инфильтрацией собственной пластинки и уменьшением числа межэпителиальных лимфоцитов. Электрофизиологические и морфологические данные свидетельствуют о протективном действии серотонина на структурно-функциональные характеристики стенки кишки, то есть об интестинопротективном влиянии серотонина при целиакии.

Таким образом, влияние серотонина на моторную функцию тонкой кишки является позитивным не только в норме, но и при патологии, в частности, при целиакии.

Выводы

1. При изучении механизмов регуляции сокращений двенадцатиперстной кишки с помощью серотонина установили, что оптимальной дозой является 0,1 мг/кг (введение серотонина в дозе 0,05 мг/кг вызывало двоякий эффект - реже стимуляторный, чаще – тормозной, введение серотонина в дозе 0,15 мг/кг не усилило стимуляторную реакцию по сравнению с дозой 0,1 мг/кг).

2. Внутриартериальное введение серотонина вызывает такой же быстрый сократительный эффект двенадцатиперстной кишки крысы, как и раздражение серотонинергического нерва.

3. Предварительная блокада вместе или порознь α- и β-адренорецепторов и М- и N-холинорецепторов ведет к усилению сократительного эффекта двенадцатиперстной кишки в ответ на введение в организм серотонина, таким образом интактные адрено- и холинергические механизмы препятствуют стимуляторному действию серотонина на двенадцатиперстную кишку. Блокада β-адренорецепторов сама по себе усиливает сокращения двенадцатиперстной кишки, а последующее введение в организм серотонина вызывает наиболее выраженное усиление сокращений двенадцатиперстной кишки.

4. На нейронах вегетативных ганглиев локализуются преимущественно $5HT_{1.3.4}$-рецепторы, на гладкомышечных клетках двенадцатиперстной кишки $5HT_{2b}$-рецепторы. Возбуждение на нейроны вегетативных ганглиев с преганглионарных волокон передается с помощью $5HT_{1.3\ 4}$-рецепторов, с постганглионарных на мышечные волокна – посредством $5HT_{2b}$-рецепторов.

5. Создана модель синдрома целиакии введением в просвет кишки пикрилсульфоновой кислоты. Экзогенный серотонин тормозит развитие синдрома целиакии в эксперименте – значительно уменьшаются морфологические признаки повреждения кишки, и сохраняется электромоторная активность.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. Материалы проведенных исследований указывают на необходимость организации комплексных исследований с участием фармакологов и клиницистов по разработке препаратов серотонина пролонгированного действия и исследования его в клинических условиях с лечебной целью.

2. Следует учитывать в клинической практике эффект усиления влияния серотонина, на моторику ЖКТ на фоне действия блокаторов β-адренорецепторов.

3. Следует учитывать энтеропротективное действие серотонина при лечении целиакии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян, Н.А. Нормальная физиология: учеб. / Н.А. Агаджанян, В.М. Смирнов. - М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. – 520 с.: ил.
2. Амвросьев, А.П. Адренергическая и холинергическая иннервация органов пищеварительной системы / А.П. Амвросьев.- Минск: Наука и техника, 1977. - 182 с., ил.
3. Андрианов В.В., Бадиков В.И., Вагин Ю.Е. Нормальная физиология. М., 2008. – 232 С.
4. Арчакова, Л.И. Электронно-гистохимический анализ холинергических и адренергических окончаний каудального брыжеечного ганглия кошки / Л.И. Арчакова // Нервные и гуморальные механизмы регуляции функций в норме и патологии. - 1980, с.115-21.
5. Бехтерев, В.М. О центральной и периферической иннервации кишок / В.М. Бехтерев, Н.Л. Миславский // Избранные произведения / Н.Л. Миславский. – М.,1952. – С.106-29.
6. Смирнов В. М. Стимуляция сокращений желудка серотонинергическими нервными волокнами / В.М. Смирнов, И.Л. Мясников, Д.С. Свешников // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.- 1997.- №5.-С.51.
7. Богач, П.Г. Алгоритмические и автоматные модели деятельности гладких мышц / П.Г. Богач, Л.В. Решодько.- Киев: Наукова думка, 1979. - 348 с.: ил.
8. Буторова, Л.И. Возможности коррекции нарушения кишечного микробиоценоза лактулозой / Л.И. Буторова, А.В. Калинин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.- 2002.- №1.- С.79-83.
9. Глебов, Р.Н. Функциональная биохимия синапсов / Р.Н. Глебов, Г.Н. Крыжановский.- М.: Медицина, 1978.- 325 с.: ил.

10. Завьялов, А.В. Миоэлектрическая активность и функциональные взаимоотношения различных отделов гастродуоденального комплекса в условиях ваготомии и на фоне действия серотонина / А.В. Завьялов, В.Д. Затолокин, А.П. Симоненков и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т.127. - №4. – С.384-6.
11. Кен-Куре, К. Значение блуждающего нерва в парасимпатической иннервации органов брюшной полости / К. Кен-Куре // Сов. невропатология, психиатрия, психогигиена. – 1935. – Т.4, Вып.2. – С.146-59.
12. Климов, П.К. Физиология желудка: механизмы регуляции / П.К. Климов, Г.М. Барашкова - Л.: Наука.- 1991.- С.256.
13. Камкин, А.Г. Фундаментальная и клиническая физиология / Учебник под редакцией А.Г. Камкина, А.А. Каменского // «Академия». – 2004. – С.1072.
14. Коротько, Г.Г. Функциональные и морфологические аспекты язвенной болезни / Г.Г. Коротько, Л.А. Фаустов.- Краснодар.- 2002. – С.156.
15. Кромин А.А. Система пищеварения: В кн. Физиология человека. П/р В.М.Смирнова. М., 2001, с.337-94.
16. Кромин, А. А. Нормальная физиология / А.А. Кромин.- М.: Издательский центр «Академия», 2010.-С. 265 – 303.
17. Крохина, Е.М. О нейронном составе интрамуральных нервных сплетений желудочно-кишечного тракта / Е.М. Крохина, Л.М. Чувильская // Бюл..эксперимент.биологии и медицины. - 1975.- Т.79, № 3.- С.110-3.
18. Лазаренко В.А. Концепция применения серотонина у больных облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей в стадии «критической ишемии» / В.А. Лазаренко, А.П. Симоненков, Е.В. Лазарев // Актуальные проблемы медицины и фармации : материалы 66-й научной конференции студентов и молодых ученых, г. Курск.- Курск, 2001. – С. 307-9.

19. Хаджиев, О.Ч. Нарушение микроциркуляции в слизистой оболочке желудка при язве и влияние серотонина на их динамику / О.Ч. Хаджиев, В.И. Лупальцев, А.П. Симоненков // Бюл экспер биол. – 2000. – 9. – С.268-71.

20. Лычкова, А.Э. Серотонинергическая нервная система сердца и органов брюшной полости в норме / А.Э. Лычкова // Бюл. эксперимент. биологии и медицины.-2004.-Т.138, №8.-С. 148-51.

21. Лычкова, А.Э. Серотонинергическая система в развитии пилоростеноза и панкреатита / А.Э. Лычкова // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. - 2008.-Т.146, №8.- С. 226 - 232.

22. Лычкова, А.Э. Экспериментальная язва желудка: гастро- и дуоденопротективное действие сибусола / А.Э. Лычкова, В.М. Смирнов, В.И. Савчук // Бюлл экспериментальной биол и медицины. – 2004. - №1. – С.42-4.

23. Лычкова, А.Э. Роль серотонинергической системы в развитии заболеваний кишечного тракта и желчевыводящих путей / А.Э. Лычкова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2009. - N 5. - С. 589-94.

24. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский.- М.: Новая волна, 2009.

25. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: справ. / В.В. Меньшиков.- М., 1987.-364 с.

26. Николаева, А.А. Прогностическая оценка реакции сосудов на вазоактивные лекарства и клинический индекс серьезности заболевания у пациентов с инфарктом миокарда / А.А. Николаева, Ж.И. Лившец, И.Ш. Шеренталь и др. // Кардиология.- 1991.- 31(12).- С.21-4.

27. Ноздрачев, А.Д. Болезни органов кровообращения: рук. по внутр. болезням / А.Д. Ноздрачев; под ред. Е. И. Чазова. - М., 1997.-С. 8-89.

28. Нормальная физиология: учеб. / под ред. В.М. Смирнова.- 3-е изд.-М.: Академия, 2010.-480 с.

29. Овсянников, В.И. Механизмы влияния серотонина на сократительную активность илеоцекальной зоны у бодрствующих кроликов / В.И. Овсянников, Т.П. Березина // Рос. физиол. журн.- 2005.- Т.91, № 4.- С.437-49.

30. Ольбинская, Л.И. Эффективность и безопасность отечественного неселективного β-адреноблокатора проксодолола в лечении больных с хронической сердечной недостаточностью / Л.И. Ольбинская, Ж.М. Сизова // Кардиология.- 2006.-Т.46,№12.-С. 17-20.

31. Парфенов, А.И. Целиакия / А.И. Парфенов.- М.: Анахарсис, 2007.- С.376

32. Покровский В.М., Коротько Г.Ф. Физиология человека. Учебник. том 1, 2. М.,"Высшая школа". 2005.

33. Попова, Л.М. Изучение механизмов разнонаправленного действия блуждающего нерва на моторику тонкой кишки / Л.М. Попова, В.М. Смирнов // Физиологический журнал СССР им. И. М. Сеченова – 1980. – Февр.66(2). – С. 235-40

34. Пошехонова, Ю. В. Клінічне значення показників гістамину й серотоніну в плазмі крові дітей з функціональною диспепсією / Ю.В. Пошехонова // Педіатрія, акушерство та гінекол.-2003.-№5.-С. 33-7.

35. Протас, Л.Л. Инотропное воздействие ацетилхолина на вентрикулы сердца лягушки Rana temporaria в стадии личинки / Л.Л. Протас // Журн. эвол. биохим. физиол. – 1991.- №27 (1).- С. 58-63.

36. Симоненков, А.П. Являются ли серотонинорецепторы жизненно важными? / А.П. Симоненков, В.Д. Федоров, А.В. Федоров и др. // Вестник РАМН. -1995.- №6.- С. 27-30.

37. Симоненков, А.П. Профилактика и лечение серотониновой недостаточности у хирургических больных / А.П. Симоненков, В.Д. Федоров // Хирургия. -2003. -№3.- С.76-80.

38. Симоненков, А.П. Серотонин и его рецепторы в генезе стресса и адаптации / А.П. Симоненков, В.Д. Федоров // Вестн. РАМН. -2002. -№ 8. - С.9-13.

39. Синенченко Г.И. Эндолимфатическая инфузия серотонина адипината в лечении послеоперационного пареза кишечника / Г.И. Синенченко, В.Г. Вербицкий, А.В. Колунов // Мед. вестн. МВД.- 2006.- №2(21).-С.21-3.

40. Смирнов В.М. Механизм торможения сокращений тонкой кишки посредством блуждающего нерва у кошки / В.М. Смирнов // Вестник РГМУ.- 2000.- №1 (11).- С. 56-61.

41. Смирнов, В.М. Механизм стимуляции сокращений желудка и двенадцатиперстной кишки большим чревным нервом / В.М. Смирнов, В.А. Клевцов, А.Э. Лычкова // Физиол. журн. СССР.- 1986.- Т.72, №5.- С.650-5.

42. Смирнов, В.М. Серотонинергическая природа нервных волокон, усиливающих сокращения желудка и кишечника / В.М. Смирнов, С.Ф. Волынцева // Структура и функции вегетативной нервной системы: I Междунар. симп, г.Воронеж. - Ворнеж,1995.- С.95-97.

43. Смирнов, В.М. Природа нервных волокон, усиливающих сокращения желудка и кишечника / В.М. Смирнов, Д.С. Свешников, И.Л. Мясников // Успехи физиол. наук.- 1994. – Т.25, №3. – С.118-119.

44. Смирнов, В.М. Анализ механизмов ускорения сердцебиений, возникающих при раздражении блуждающего нерва / В.М. Смирнов // Физиол. журн. СССР.- 1989.-Т.75, №12.- С.1782-8.

45. Смирнов, В.М. О механизмах тормозного влияния блуждающего нерва на моторику тонкой кишки / В.М. Смирнов, Л.М. Иванченко // Центральный и периферические механизмы регуляции физиологических функций : материалы Всес. конф. посвящ. 70-летию чл-корр. АМН СССР

Г.И. Косицкого, Москва, 2 МОЛГМИ им. Н.И.Пирогова.- М., 1990.- С. 93-94.

46. Смирнов, В.М. Исследование механизма усиления сокращений двенадцатиперстной кишки при раздражении симпатического ствола / В.М. Смирнов, Д.С. Свешников, И.Л. Мясников // Бюл. эксперимент. биологии и медицины.-1997.- №1.-С.11-14.

47. Смирнов, В.М. Исследование механизма торможения сокращений тонкой кишки, возникающего при раздражении блуждающего нерва / В.М. Смирнов, Л.М. Иванченко // Структура и функции вегетативной нервной системы : 2-й Междунар. симп., г. Воронеж.- Воронеж, 1998.- С. 25-7.

48. Смирнов, В.М. Существует ли серотонинергический отдел вегетативной нервной системы / В.М. Смирнов // Структура и функции вегетативной нервной системы: II Междунар. симп., май, 1998, г. Воронеж.- Воронеж, 1998.-С.25-27.

49. Смирнов, В.М. Двоякое влияние блуждающего и симпатического нервов на сокращение двенадцатиперстной кишки / В.М. Смирнов, Л.М. Иванченко // Материалы конф. посвящ 150-летию И.П. Павлова.- Спб., 1999.- С.287.

50. Смирнов, В.М. Механизмы синергичного взаимодействия отделов вегетативной нервной системы в регуляции моторики желудка / В.М. Смирнов, А.Э. Лычкова // Бюлл. эксперимент. биологии и медицины. -2002.- т. 134, №7.- С. 16-19.

51. Смирнов, В.М. Синергизм холинергического и серотонинергического нервов в регуляции функций внутренних органов / В.М. Смирнов, А.Э. Лычкова // М., МИА. - 2008. – 208 с.

52. Смирнов, В.М. Механизм синергизма симпатической и парасимпатической нервной системы в регуляции деятельности сердца и

желудка / В.М. Смирнов, А.Э. Лычкова // Вестн. РАМН.- 2002.-№ 4.-С.16-20.

53. Смирнов, В.М. Синергичное влияние серотонинергических и холинергических нервных волокон / В.М. Смирнов, А.Э. Лычкова // Бюл. эксеримент. биологии и медицины.- 2001.-№ 12.-С.624-6.

54. Смирнов, В.М. Экспериментальные данные о существовании серотонинергического отдела вегетативной нервной системы / В.М. Смирнов, И.Л. Мясников, Д.С. Свешников // Тезисы докл. XVII Съезда Всероссийс. физиол. о-ва им. И.П. Павлова, Ростов-на-Дону.- Ростов-на-Дону,1998.-С. 60.

55. Смирнов, В.М. Исследования механизма усиления сокращений желудка возникающих при раздражении симпатического ствола / В.М. Смирнов, И.Л. Мясников, Д.С. Свешников // Бюл. эксперимент. биологии и медицины.- 1994.- №10.-С.355-359.

56. Смирнов, В.М. Возможная роль серотонинореактивных структур в усилении двигательной активности двенадцатиперстной кишки вызванной раздражением симпатического ствола / В.М. Смирнов, Д.С. Свешников, Е.А. Берсенева // Авиакосм. экол. мед.- 1999.- 33 (5).- С. 40-5.

57. Смирнов, В.М. Проблема двоякого влияния вегетативного нерва на орган и серотонинергический нерв / В.М. Смирнов, Д.С. Свешников, И.Л. Мясников .- Элиста, Джангар, 2008. – 192 с.

58. Ткаченко, Б.И. Нормальная физиология человека: учеб. / Б.И. Ткаченко. М.: Медицина, 2005. - 928 с.

59. Толкунов, Ю.А. Первичные афферентные и двигательные нейроны тонкой кишки морской свинки / Ю.А.Толкунов, А.Д. Ноздрачев // Вестн. С.-Петербург. Ун-та, 2007.- Сер. 3, № 1. – С. 71-7.

60. Тропская, Н.С. Анализ влияния фармакологических препаратов разного механизма действия на пропульсивную активность тонкой кишки /

Н.С. Тропская, Т.С. Попова, Г.И. Соловьева // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2005.- Т. 140, № 9.- С. 247-9.

61. Тропская, Н.С. Роль серотонина в восстановлении электрической активности желудка и тонкой кишки в раннем послеоперационном периоде у крыс / Н.С. Тропская // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 2005. №11. С.511 – 514.

62. Трубицына, И.Е. Молекулярный механизм взаимодействия нервной и диффузной эндокринной системы слизистой оболочки желудка / И.Е. Трубицына // Рос. мед. форум – 2006 "Фундаментальная наука и практика", 18-20 окт., г. Москва.- М., 2006.-С. 134 – 135.

63. Уткина, Р.В. О значении заднекорешковой иннервации в моторной активности желудка / Р.В. Уткина // Физиол. журн. СССР. – 1956. – Т.42,№12. – С.1058-63.

64. Федоров, В.Д. Уточнение классификации гипоксических состояний / В.Д. Федоров, А.П. Симоненков, В.М. Клюжев //Вестник РАМН. – 2004. - №1. – С. 23-5.

65. Физиология человека. Т.1-3: учеб. / под ред. Р. Шмидта, Г. Тевса.- 3-е изд.- М., Мир, 2004. – 864 с.: ил.

66. Шуба, М.Ф. О природе пуринергического и адренергического торможения гладких мышц / М.Ф. Шубаб И.А. Владимирова, А.И. Мирошников // Физиология и биохимия медиаторных процессов. – М.: Медицина. – 1980. – С.230.

67. Akiyama, T. Adrenergic inhibition of endogenous acetylcholine release on postganglionic cardiac vagal nerve terminals / T. Akiyama, T. Yamazaki // Cardiovasc Res.- 2000.- Vol. 46.- N3.- P. 531-8.

68. Aune, T.M. Inhibitors of serotonin synthesis and antagonists of serotonin 1A receptors inhibit T lymphocyte function in vitro and cell-mediated immunity in vivo / T.M. Aune, H.W Golden., K.M. McGrath // J Immunol. – 1994. – v.153 – P. 489-98.

69. Ayali, A. Monoamine control of the pacemaker kernel and cycle frequency in the lobster pyloric network / A. Ayali, R.M. Harris-Warrick // J Neurosci. – 1999.- Aug .- Vol. 19.- N15.- P. 6712-22.

70. Bathon, E. Cholinergic response of the gastroduodenal junction to splanchnic nerve stimulation / E. Bathon, H. Ormsbee // Gastroenterology. – 1980. – Vol.78. – N5. – P.1528-600.

71. Bertrand, P.P. ATP and 5-HT activate mucosal terminals of intrinsic sensory neurons of the intestine / P.P. Bertrand, J.C. Bornstein // Neuroenterology – From Clinics to Basics : In Falk Symposium No.112: (eds. Krammer H.J., Singer M.V.). MTP, London, 2000.

72. Borman. R.A. 5-HT(2B) receptors play a key role in mediating the excitatory effects of 5-HT in human colon in vitro / R.A. Borman, N.S. Tilford, D.W. Harmer et al. // Br J Pharmacol.- 2002.-Vol.135.-N5.-P.1144-51.

73. Bramich, N.J. Potentiation by neostigmine of responces to vagal nerve stimulation in the sinus venosus of the toad / N.J. Bramich, J.A. Brock, G.O. Hirst // Auton. Neurosci.- 2000.- Aug 14.- Vol. 82.- N3.- P. 109-114.

74. Ceccarelli, P. Serotonin-containing cells in the horse gastrointestinal tract / P. Ceccarelli, V. Pedini, A.M. Gargiulo // Anat Histol Embryol.- 1995.- Jun.- Vol. 24.- N2.- P. 97-99.

75. Celener, D. Influence of pirenzepine on colonic serotonin changes induced by short chain fatty acid / D. Celender, M.I. Ledesma de Paolo, E. Gonzalea et al. // Acta Physiol Pharmacol Ther. Latinoamer.- 1994.- Vol. 44.- N1-2.- P. 11-6.

76. Cerutti, C. Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats: a spectral analysis approach / C. Cerutti, M.P. Gustin, C.Z. Paultre et al. // Am J Physiol.- 1991.- Oct.- Vol. 261.- N2.- P. H1292-H1299.

77. Chiba T. Autonomic neurons and paraneurons (SIF cells) in the sympathetic ganglia regulating guinea pig proximal colon: immunohistochemical studies / T. Chiba, S. Masuko // Arch Histol Cytol /- 1989.- Vol. 52.- P. 343-50.

78. Choi, D.S The human serotonin 5-HT2B receptor: pharmacological link between 5-HT2 and 5-HT1D receptors / D.S. Choi, G. Birraux, J.M. Launay et al. // FEBS Lett .- 1994.- Oct.- Vol.352.- N3.- P. 393-9.

79. Cohen, M.L. 5-HT4 receptors in rat but not guinea pig, rabbit or dog esophageal smooth muscle / M.L. Cohen, A.D. Susemichel, W. Bloomquist et al. // Gen Pharmacol. – 1994 – Oct. – 25(6). – P. 1143-8.

80. Coleman, N.S. Abnormalities of serotonin metabolism and their relation to symptoms in untreated celiac disease / N.S. Coleman, S. Foley, S.P. Dunlop et al. // Clin Gastroenterol Hepatol.- 2006.- Jul.- Vol. 4.- N7.- P. 874-81.

81. Delbro, D. Non-ganglionic cholinergic excitatory pathways in the sympathetic suppy to the feline stomach. An efferent system or afferents with excitatory axon collateral / D. Delbro, B. Lisander // Acta Physiol Scand. – 1980/ - Vol.110. - №2. – P.137-44.

82. Derkach, V. $5HT_3$-receptors are membrane ion channels / V. Derkach, A. Suprenant, R. North // Nature.-1989.- Vol.339.- N.6227.- P.706-9.

83. De Ponti, F. Role of 5-HT1B/D receptors in canine gastric accommodation: effect of sumatriptan and 5-HT1B/D receptor antagonists / F. De Ponti, F. Crema, E. Moro et al. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.- 2003.- Vol. 285.- P. G96-G104.

84. De Vries, P. Nature of 5-HT1-like receptors mediating depressor responses in vagosympathectomized rats; close resemblance to the cloned 5-ht7 receptor / P. De Vries, C.M. Villalon, J.P. Heiligers et al. // Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.- 1997.- Jul.- Vol. 356.- N1.- P. 90-9.

85. Dujic, Z. Presynaptic modulation of ganglionic ACh release by muscarinic and nicotinic receptors / Z. Dujic, D.L. Roerig, H.K. Schedewie, J.P. Kampine, Z.J. Bosnjak // Am J Physiol.- 1990.- Aug.- Vol. 259.- N2.- P. R288-R293.

86. Edwards, F.R. An electrical analysis of slow wave propagation in the guinea-pig gastric antrum / F.R. Edwards, G.D. Hirst // J Physiol.- 2006.- Vol. 571.- P. 179–89.

87. El-Salhy, M. The nature and implication of intestinal endocrine cell changes in coeliac disease / M. El-Salhy // Histol Histopathol.- 1998.- Oct.- Vol. 13.- N4.- P. 1069-75.

88. Emre-Aydingoz, S. Relaxation induced by serotonin and sumatriptan in isolated guinea pig gallbladder strips / S. Emre-Aydingoz, S.R. Erdem, M. Tuncer // Res. Exp. Med (Berl).- 2001.- Mar.- Vol. 200.- N3.- P.175-82.

89. Erdemoglu, A.K. Psychogenic basilar migraine / A.K. Erdemoglu // Neurology.- 1996.- Jul.- Vol. 47.-N1.- P. 302-303.

90. Fandriks, L. Cholinergic excitatory motor responses of the feline colon elicited by high-strength sympathetic nerve / L. Fandriks, D. Delbro // Acta Physiol Scand. – 1983. – Vol.117. – N3. – P.473-5.

91. Farrugia, G. Ca^{2+} handling in human interstitial cells of Cajal / G. Farrugia // Gastroenterology.- 2007.- Vol. 132.- P. 2057–9.

92. Flesch, M. Differential effects of carvedilol and metoprolol on isoprenaline-induced changes in beta-adrenoceptor density and systolic function in rat cardiac myocytes / M. Flesch, S. Ettelbruck, S. Rosenkranz et al. // Cardiovasc. Res.- 2001.- Feb.- Vol. 49.- N2.- P. 371-80.

93. Freeman, H.J. Pearls and pitfalls in the diagnosis of adult celiac disease / H.J. Freeman // Can J Gastroenterol.- 2008.- Mar.- Vol. 22.- N3.- P. 273-80.

94. Fozard J. $5HT_3$-receptors and cytotoxic drug-induced vomiting / J. Fozard // Trends Pharmacol Sci.-1987.-Vol.8.- N2.- P.44-5.

95. Fozard, J. Agonists and antagonists of $5HT_3$-receptors / J. Fozard // Cardiovascular Pharmacology of 5-Hydroxytryptamine / ed. P. Saxena.- Kluwer the Netherlands, 1990.- P. 101-15.

96. Furness, J.B. Shapes and projections of tertiary plexus neurons of the guinea-pig small intestine / J.B. Furness, N. Clerc, A.E. Lomax, J.C. Bornstein, W.A. Kunze // Cell Tissue Res.- 2000.- Jun.- Vol. 300.- N3.- P.383-7.

97. Furness, J.B. Morphology and distribution of intrinsic adrenergic neurones in the proximal colon of the guinea-pig / J.B. Furness, M. Costa // Z Zellforsch Mikrosk Anat.- 1971.- Vol. 120.- N3.- P. 346-63.

98. Galligan, J.J. Electrophysiological studies of 5-hydroxytrypamine receptors on enteric neurons / J.J. Galligan // Behav Brains Res.- 1996.- Vol. 73.- P. 199-201.

99. Gandin-Charal, G. Visualization of serotonin neurons in the nodose ganglia of the cat. An autoradiographic study / G. Gandin-Charal, L. Sedu et al. // Neuroscience.- 1981.- Vol. 6.- N6.- P. 1127-37.

100. Gebauer, A. Modulation by 5-HT3 and 5-HT4 receptors of the release of 5-hydroxytryptanine from the guinea pig small intestine / A. Gebauer, M. Merger, H. Kulbinger // Naunyn-Schmeiedelberg's Asrch Pharmac.- 1993.- Vol. 347.- P.137-40.

101. Gillespie, J.E. The ingibitory action of the sympathetic nerves on the smooth muscle of the rabbit gut, its reversal by reserpine and restoration by catechol amines and by dopa / J.E. Gillespie, B.R. Mackenna // J Physiol. – 1961. – Vol.156. – N1. – P.17-34.

102. Goggins, M. Celiac disease and other nutrient related injuries to the gastrointestinal tract / M. Goggins, D. Kelleher // Am J Gastroenterol.- 1994.- Aug.- Vol. 89.- N8.- P. S2-S17.

103. Goldstein, B. Anatomy of the peripheral nervous system / B. Goldstein // Phys Med Rehabil Clin N Am.- 2001.- May.- Vol. 12.- N2.- P. 207-36.

104. Grundy, D. Sensory afferents from the gastrointestinal tract / D. Grundy, T. Scratcherd // The Gastrointestinal Systems /eds Schults S., Wood J.D. and Rauner B.B - Waverly, Baltimore, 1997.- vol.2.

105. Hatip-Al-Khatib, I. Modulation of the negative inotropic effect of галоперидол by drugs with positive inotropic effects in isolated rabbit heart./ I. Hatip-Al-Khatib, F. Bolukbasi-Hatip // Pharmacology.- 2002.- Sept.- Vol. 66.-N1.- P. 19-25.

106. Heppener, T.J. Muscarinic transmission decreases the number of SIF cells demonstrating catecholamine histofluorescence in rat superior cervical ganglia / T.J. Heppener, J. Heistein, J.F. Fiekers // J Auton Nerv Syst.- 1996.- Vol. 61.- N1/- P. 61-9.

107. Hernanz, A. Plasma precursor amino acids of central nervous system monoamines in children with coeliac disease./ A. Hernanz, I. Polanco // Gut.- 1991/- Dec.- Vol. 32.- N12.- P. 1478-81.

108. Hillsley, K. Direct and undirect actions of 5-hydroxytryptamine on the discharge of the mesenteric afferent fibres innervating the rat jeujunum./ K. Hillsley, A.J. Kirkup, D. Grundy // J Physiol Lond.- 1998.- Vol. 506.- P. 551-61.

109. Hirafuji, M. Signal transduction of serotonin release from enterochromaffin cells in mouse ileal crypts./ M. Hirafuji, K. Kato, T. Suzuguchi, T. Ogawa, T. Endo, Y. Satoh, M. Minami // Nippon Yakurigaku Zasshi.- 1998.- Oct.- Vol. 112.- N 1.- P. 133-7.

110. Huizinga, J.D. Gut peristalsis is governed by a multitude of cooperating mechanisms./ J.D. Huizinga, W.J.E.P. Lammers // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol .- 2009.- Vol. 296.- P. G1-G8.

111. Hunyady, B. Vesicular monoamine transporters in the rat stomach./ B. Hunyady, M. Palkovits, E. Mezey // J Physiol Paris.- 2000.- Mar-Apr.- Vol. 94.-N2.- P. 123-30.

112. Ito, C. Acetylcholine causes nicotinic depolarization in rat dorsal motor nucleus of the vagus, in vitro. / C. Ito, A. Fukuda, J. Nabekura, Y. Oomura / Brain Res // 1989.- Nov.- Vol. 503.- N1.- P. 44-8.

113. Iwanaga, T. Topographical relation between serotonin-containing paraneurons and peptidergic neurons in the intestine and urethra. / T. Iwanaga, H. Han, O. Hoshi et al. // Biol Signals.- 1994.- Sep-Oct.-Vol. 3/-N5.- P. 259-70.

114. Jin, J.G. Propulsion in guinea pig colon induced by 5-hydrozitriptamine (HT) via 5-HT4 and 5-HT3 receptors./ J.G. Jin, A.E. Fox-Orenstein, J.R. Grider // J Pharmac Exp Ther.- 1999.- Vol. 288.- P.93-7.

115. Joo F. On the problem of the origin of nerve terminals in the sympathetic ganglia./ F. Joo // J Neural Transm.- 1974.- Vol. 11.- N0.- P. 285-98.

116. Joo F. Endothelial cells of the brain and other organ systems: some similarities and differences./ F. Joo // Prog Neurobiol.- 1996.- Vol. 48.- N3.- P. 255-73.

117. Katz A.M. Discovery of phospholamban. A personal history / A.M. Katz // Ann N-Y-Acad-Sci.- 1998.- Sept.- Vol. 853.- P. 9-19.

118. Kitazawa, T. Pharmacological characterization of 5-hydroxytryptamine-induced contraction in the chicken gastrointestinal tract / T. Kitazawa, H. Ukai, S. Komori et al // Auton Autacoid Pharmacol. – 2006. – Apr;26(2). – P.157-68.

119. Ku, S.K. The regional distribution and relative frequency of gastrointestinal endocrine cells in SHK-1 hairless mice: an immunohistochemical study / S.K. Ku, J.H. Lee, H.S Lee et al // Anat Histol Embryol.- 2002.- Vol.31.-N2.- P.78-84

120. Lai, Y.C. Effects of serotonin on acid secretion in isolated rat stomach: the role of 5-HT3 receptors / Y.C. Lai, K.H. Huang, L.H. Tsai // Chin J Physiol. – 2009. – Nov 30;52(5 Suppl). – P.395-405.

121. Lammers, W.J. Origin and propagation of individual slow waves along the intact feline small intestine / W.J. Lammers, B. Stephen // Exp Physiol.- 2008.- Vol. 93.- P. 334–46.

122. Lee, K.J. Plasma ghrelin levels and their relationship with gastric emptying in patients with dysmotility-like functional dyspepsia / K.J. Lee, D.Y. Cha, S.J. Cheon et al. // Digestion.- 2009/- Vol. 80.- P. 58–63.

123. Lee, K.J. The alteration of enterochromaffin cell, mast cell, and lamina propria T lymphocyte numbers in irritable bowel syndrome and its relationship with psychological factors / K. Lee, Y.B. Kim, J.H. Kim et al. // J Gastroenterol Hepatol.- 2008.- Vol. 23.- P. 1689–94.

124. Lee, K.J. Duodenal Implications in the Pathophysiology of Functional Dyspepsia / K.J. Lee, J. Tack // J Neurogastroenterol Motil.- 2010.- Vol. 16.- N3.- P. 251–7.

125. Lerman, S.H. Gastric motor response to sympathetic nerve stimulation / S.H. Lerman, G.R. Mason, E.M. Barton et al. // J Surg Res. – 1982. – Jan;32(1). – P.15-23.

126. Leung, C.M. Changes in preganglionic sympathetic nerve function following chronic morphine treatment in rats / C.M. Leung, S. Dai, C.W. Ogle // Brit.J.Pharmacol.- 1990.- Feb.- Vol. 99.- N2.- P. 247-52.

127. Lin, A.S.H. Modelling slow wave activity in the small intestine / A.S.H. Lin, M.L. Buist, N.P. Smith et al. // J Theoret Biol.- 2006.- Vol.242.- P.356–362.

128. Linden, D.R. Serotonin availability is increased in mucosa of guinea pigs with TNBS-induced colitis / D.R. Linden, J-X. Chen, M.D. Gershon et al. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. - 2003.-Vol.285.- P. G207-G216.

129. Lopez, J.A. Response of the mesenteric circulation to serotonin in normal and atherosclerotic monkeys: implications for the pathogenesis of non-occlusive intestinal ischaemia / J.A. Lopez, B.P. Brown, M.L. Armstrong et al. // Cardiovasc Res. – 1989. – Feb;23(2). – P. 117-24

130. Lordal, M. Concentration-dependent stimulation of intestinal phase III of migrating motor complex by circulating serotonin in humans / M. Lordal, H. Wallen, P. Hjemdahl et al // Clin Sci (Lond). – 1998. – Jun;94(6). – P.663-70.

131. Dvorakova, M.C. Immunohistochemical evidence for species-specific coexistence of catecholamines, serotonin, acetylcholine and oxide in glomus cells of rat and guinea pig aortic bodies / M.C. Dvorakova, W. Kummer // Ann Anat. – 2005. – Sep;187(4). – P.323-31.

132. MacLean, M.R. Serotonin and pulmonary hypertension--from bench to bedside / M.R. MacLean, Y. Dempsie // Curr Opin Pharmacol.- 2009.-Vol.9.- N3.- P.281-6.

133. McKenzie, C. Mechanisms involved in the regulation of bovine pulmonary vascular tone by the $5HT_{1B}$ receptor / C. McKenzie, V.R. Alapati, A. MacDonald et al // Br J Pharmacol. -2010.-Vol. 159.-N1.-P.188-200.

134. Matsumoto, S.G. Neurotransmitter properties of guinea-pig sympathetic neurons grown in dissociated cell culture--I. Adult neurons / S.G. Matsumoto, R.P. Gruener, D.L. Kreulen // Neuroscience.- 1993.- Dec.- Vol.57.- N4.- P. 1135-45.

135. McDevitt, J. Effects of tumour necrosis factor-alpha on BrdU incorporation in cultured human enterocytes / J. McDevitt, C. Feighery, C. O'Farrelly et al. // Mediators Inflamm. - 1995. - Vol.4. - N1. - P.31-7.

136. Moran, A. Pharmacological characterization of 5-HT receptors in parasympathetic innervation of rat heart / A. Moran, C. Velasco, M.L. Martin, L. San Roman // Eur J Pharmacol.- 1994.- Feb.- Vol.252.- N2.- P.161-6.

137. Moyana, T.N. Gastrointestinal endocrine cell hyperplasia in celiac disease: a selective proliferative process of serotonergic cells / T.N. Moyana, S. Shukoor // Mod Pathol.- 1991.- Jul.- Vol.4.- N4/- P. 419-23.

138. Nakagura, Y. The role of 5-hydroxytryptamine 3 and 5-hydroxytryptamine 4 receptors in the regulation of gut motility in thr farret / Y. Nakagura, T. Kiso, H. Ito et al // Life Sci.- 2000.-Vol. 66.- N24.- P. l331-8.

139. Nemoto, M. 5-Hydroxytryptamine (5-HT)-induced depolarization in isolated abdominal vagus nerves in the rat: involvement of 5-HT3 and 5-HT4 receptors / M. Nemoto, T. Endo, M. Minami et al. // Res Commun Mol Pathol Pharmacol.- 2001.- Mar-Apr.- Vol.109.- N3-4.- P. 217-330.

140. O'Grady, G. Origin and propagation of human gastric slow-wave activity defined by high-resolution mapping / G. O'Grady, P. Du, L.K. Cheng et al. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.- 2010.- Vol.299.- N3.- P. G585 - G592.

141. O'Hara, J.R. Enteroendocrine cells and 5-HT availability are altered in mucosa of guinea pigs with TNBS ileitis / J.R. O'Hara, W. Ho, D.R. Linden. et al.// Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.- 2004.- Vol.287.- P. G998-G1007.

142. Opie, L.H. Myocardial metabolism in health and disease / L.H. Opie // J. Mol. and Cell. Cardiol.- 1978.- Vol.10.- N 8.- P. 73.

143. Ortiz de Urbina, A.V. Modulation of noradrenergic transmission in the rat isolated portal vein: role of prejunctional alpha 2-adrenoceptors and beta-adrenoceptors / A.V. Ortiz de Urbina, M. Davy, M. Midol-Monnet et al. // Gen Pharmacol.- 1992.- Jul.- Vol.23.- N4.- P. 763-7.

144. Pascual, D. New benzimidazole derivatives: selective and orally active 5-HT3 receptor antagonists / D. Pascual, R. Girón, A. Alsasua et al. // Eur J Pharmacol.- 2003.- Feb.- Vol.462.- N1-3.- P. 99-107.

145. Peronnet, F. Effect of increases in myocardial epinephrine content on epinephrine release from the dog heart / F. Peronnet, G. Boudreau, J. de Champlain, R.A Nadeau // Can J Physiol Pharmacol.- 1993.- Dec.- Vol.71.- N12.- P. 884-8.

146. Plaza, M.A. Effects of 5-hydroxytryptamine agonists on myoelectric activity of the forestomach and antroduodenal area in sheep / M.A. Plaza, M.P. Arruebo, M.D. Murillo // J Pharm Pharmacol.- 1996.- Dec.- Vol.48.- N12.- P. 1302-8.

147. Plaza, M.A. Evidence for the involvement of 5-HT4 receptors in the 5-hydroxytryptamine-induced pattern of migrating myoelectric complex in sheep / M.A. Plaza, M.P. Arruebo, M.D. Murillo // Br J Pharmacol.- 1997.- Mar.- Vol.120.- N6.- P. 1144-50.

148. Prud'homme, M.J. Small intensely fluorescent cells of the rat paracervical ganglion synthesize adrenaline, receive afferent innervation from postganglionic cholinergic neurones, and contain muscarinic receptors / M.J. Prud'homme, E. Houdeau, R. Serghini et al. // Brain Res.- 1999.- Mar.- Vol.821.- N1.- P. 141-9.

149. Purohit, A. Creation, expression, and characterization of a constitutively active mutant of the human serotonin 5-HT6 receptor / A. Purohit, K. Herrick-Davis, M. Teitler // Synapse.- 2003.- Mar.- Vol. 47.- N3.- 218-24.

150. Racke, K. Regulation of the 5-HT release from enterochromaffin cells / K. Racke, A. Reimann, H. Schworer et al. // Behav. Brain Res. - 1996.- Vol.73.- P. 83-7.

151. Reiche, D. Projection and neurochemistry of interneurons in the myenteric plexus of the guinea-pig gastric corpus / D. Reiche, K. Michel, H. Pfannkuche et al // Neurosci Lett.- 2000.- Dec.- Vol. 295.- N3.- P. 109-12.

152. Restivo, L. The promnesic effect of G-protein-coupled 5-HT4 receptors activation is mediated by a potentiation of learning-induced growth in the mouse hippocampus / L. Restivo, F. Roman, A. Dumuis et al // Neuropsychopharmacology. – 2008. – Sep;33(10). – P.2427-34.

153. Romański, K.W. Dose-related effects of cholecystokinin octapeptide administered during various phases of the migrating motor complex on small-intestinal motility in sheep / K.W. Romański // Acta Vet Hung.- 2009.- Dec.- Vol.57.- N4.- P. 495-508.

154. Romański, K.W. Cholecystokinin-dependent selective inhibitory effect on 'minute rhythm' in the ovine small intestine / K.W. Romański // Animal.- 2009.- N3.- P. 275–86.

155. Sanders, K.M. G protein-coupled receptors in gastrointestinal physiology. IV. Neural regulation of gastrointestinal smooth muscle / K.M. Sanders // Am J Physiol.- 1998.- Jul.- Vol.275.- N1.- P. G1-G7.

156. Sarna, S.K. Are interstitial cells of Cajal plurifunction cells in the gut? / S.K. Sarna // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.- 2008.- Vol.294/- P. G372–G390

157. Sarna, SK. Neuronal locus and cellular signaling for stimulation of ileal giant migrating and phasic contractions / S.K. Sarna // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.- 2003.- May.- Vol. 284.- N5.- P. G789-G797.

158. Shan, L. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue / L. Shan, O. Molberg, I. Parrot et al. // Science.- 2002.- Vol. 297.- P. 2275-9.

159. Smith, A.B. Calcium channels controlling acetylcholine release from preganglionic nerve terminals in rat autonomic ganglia / A.B. Smith, L. Motin, N.A. Lavidis, D.J. Adams // Neuroscience.- 2000.- Vol. 95.- N4.- P. 1121-1127.

160. Smith, P.G. Modulation of parasympathetic neuron phenotype and function by sympathetic innervation / P.G. Smith, J.D. Warn, J.J. Steinle, D. Krizsan-Agbas, W. Hasan // Auton Neurosci.- 2002.- Feb.- Vol.96.- N1.- P. 33-42.

161. Spiller, R. Serotonin and GI clinical disorders / R. Spiller // Neuropharmacology.- 2008.- Nov.- Vol. 55.- N6.- P. 1072-80.

162. Stenhammar, L. Intestinal permeability to sugars and different-sized polyethylene glycol in children with coeliac disease / L. Stenhammar, R. Falth-Magnusson, G. Jansson // J. Paediatr. Gastroenterol. Nutr.- 1989.- Vol. 9.- N3.- P. 281-9.

163. Sulyman, H. Relation of adrenergic receptors, which have roles in gastroprotective and anti-inflammatory effect of adrenal gland hormones, wich cyclooxygenase enzyme levels in rats / H. Suleyman, H. Dursun, M. Bilici et al // J Physiol Pharmacol. – 2009. – Dec;60(4). – P.129-34.

164. Sun, X.L. Association of psychosocial factors and platelet 5-HT with peptic ulcer / X.L. Sun, Y.P. Wang, T.S. Liu et al. // Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. – 2004. – Nov. – 34(6). – P. 815-7.

165. Szurszewski, J.H. Prevertebral ganglia and intestinofugal afferent neurons / J.H. Szurszewski, L.G. Ermilov, S.M. Miller // Gut.- 2002.- Vol.51.- N1.- P. 6-10.

166. Takei, M. Sympathetic nerve stimulation activated both β1- and β2-adrenoreceptors of SA and AV nodes in anesthetized dog hearts / M. Takei, Y. Furukawa, M. Narita et al. // Jpn. J. Pharmacol.- 1992.- Vol.59.- N1.- P. 23-30.

167. Tanaka, K. Microvascular organization of sympathetic ganglia, with special reference to small intensely-fluorescent cells / K. Tanaka, T. Chiba // Microsc Res Tech. - 1996.- Vol.35.- N2.- P. 137-45.

168. Taniyama, K. Functions of peripheral 5-hydroxytryptamine receptors, especially 5-hydroxytriptamine receptors in gastrointestinal motility / K. Taniyama, N. Makimoto, A. Furuichi et al. // J. Gastointerol.- 2000.- Vol.35 -N18.- P. 575-82.

169. Taxi, J. Effects of axotomy, deafferentation and reinnervation on sympathetic ganglionic synapses: a comparative study / J. Taxi, D. Eugene // Int Rev Cytol.- 1995.- Vol.159.- P. 195-263.

170. Tuladhar, B.R. Evidence for 5-HT3 receptor involvement in the facilitation of peristalsis on mucosal application of 5-HT in the guinea pig isolated ileum / B.R. Tuladhar, M. Kaisar, M.J. Naylor // Br J Pharmac.- 1999.- Vol.122.- P.1174-8.

171. Van den Berghe, P. Neurochemical coding of myenteric neurons in the guinea-pig antrum / P. Van den Berghe, B. Coulie, J. Tack et al. // Cell Tissue Res.- 1999.- Vol.297.- N1.- P. 81-90.

172. Van Harn, G.L. Responses of muscules of cat small intestine to automic nerve stimulation / G.L. Van Harn // Amer J Physiol. – 1963. – Vol.204. - №2. – P.352-8.

173. Verhofstad, A.A.J. Serotonin immunoreactive cells in the superior cervical ganglion of the rat. Evidence for the existence of separate serotonin and catecholamine-containing small ganglionic cells / A.A.J. Verhofstad, H.W.M. Steinburch, B. Penke, J. Varga, H.W.J. Joosten // Brain Res.- 1981.- Vol.212.- N1.- P. 39-49.

174. Watts, S. Contractile HT_2-receptor signal transduction in guinea-pig trachea. Importance of protein kinase C and extraceiiular and intracellular calcium, but not phosphoinisitide hydrolysis / S. Watts, D. Cox // J. Pharmacol Exp Ther. – 1994. – Vol.271. - №2. – P.832-44.

175. Wahlund, G. The beta 1- and beta 2-adrenoreceptor affinity and beta 1-blocking potency of S- and R-metoprolol / G. Wahlund, V. Nerme, T. Abrahamsson, P.O. Sjoquist // Brit.J.Pharmacol.- 1990.- Vol.99.- N3.- P. 592-6.

176. Wallis, R.M. Muscarinic antagonists in development for disorders of smooth muscle function / R.M. Wallis, C.M. Napier // Life Sci.- 1999.- Vol.64.- N6-7.- P. 395-401.

177. Wanigasekara, Y., Immunohistochemical characterisation of pelvic autonomic ganglia in male mice / Y. Wanigasekara, M.E. Kepper, J.R. Keast // Cell Tissue Res.- 2003.- Feb.- Vol.311.- N2.- P. 175-85.

178. Westby, J. Alpha-adrenergic vasoconstriction in normal myocardium during sympathetic nerve stimulation / J. Westby, S. Birkeland, S.E. Rynning, O.L. Myking, J. Lekven et al. // Am J Physiol.- 1992.- Vol.231.- N6.- P. H1682-H1688.

179. Wieser, H. The precipitating factor in coeliac disease / H. Wieser // Baillieres Clin. Gastroenterol.- 1995.- Vol. 9.- N2.- P. 191-207.

180. Windscheif, U. Inhibitory action of PPADS on relaxant responses to adenine nucleotides or electrical field stimulation in guinea-pig taenia coli and rat duodenum / U. Windscheif, O. Pfaff, A.U. Ziganshin et al. // Br J Pharmacol.- 1995.- Aug.- Vol. 115.- N8.- P. 1509-17.

181. Wood, J.D. Enteric nervous system: reflexes, pattern generators and motility / J.D. Wood // Curr Opin Gastroenterol.- 2008.- Vol. 24.- P. 149–58.

182. Xue, L. Serotonergic modulation of murine fundic tone / L. Xue, M. Camilleri, G.R. Locke 3rd et al // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2006. – Dec;291(6). – P.G1180-6.

183. Yokotani, K. Release of endogenous noradrenaline from the vascularly perfused rat stomach in vitro; modulation by pre- and postsynaptic adrenoreceptors / K. Yokotani, Y. Okuma, Y. Osumi // J. Pharmacol. Exp.Ther.- 1992.- Feb.- Vol. 260.- N2.- P. 728-33.

184. Young, H.M. Ultrastructural examination of the targets of serotonin-immunoreactive descending interneurons in the guinea pig small intestine / H.M. Young, J.B. Furness // J Comp Neurol.- 1995.- Vol.356.- N1.- P. 101-14.

185. Yuan, W. A new structure of small intensely fluorescent cells in superior mesenteric ganglion of human fetus / W. Yuan, Y. Wang // Chin Med J (Engl).- 1995.- Vol. 108.- N1.- P. 52-4.

186. Yuyama, N. Effects of extrinsic autonomic inputs on expression of c-Fos immunoreactivity in myenteric neurons of the guinea pig distal colon / N. Yuyama, J. Mizuno, H. Tsuzuki et al. // Brain Res.- 2002.- Sep.- Vol. 948.- N1-2.- P. 8-16.

187. Zhang, B. Alteration of serotonin 2C receptor expression in the aorta and the pulmonary artery in rats exposed to hypoxia / B. Zhang, Y. Liu, Y. Luo et al. // Chin J Physiol. – 2008. – Dec.31 – 51(6) – P. 338-47

188. Zhang, L. Serotonin stimulates rapid increase of inositol 1,4,5 triphosphate in ovine uterine artery: correlation with contractile state / L. Zhang, X.Q. Hu // J.Pharmacol.Exp.Ther.- 1995.- Vol. 275.- N2.- P. 576-83.

189. Zifa, E. 5-Hyroxytriptamine Receptors / E. Zifa, G. Fillion // Pharmacol Rew.- 1992.- Vol.44.- N.3.- P.401-58.