

## **ИЗМЕНЕНИЕ СТАТУСА РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЗАЩИТНОГО БАРЬЕРА ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ ПОСЛЕ СЕАНСОВ ТЭС-ТЕРАПИИ**

**Могильная Г.М.<sup>1</sup>, Морозова Р.В.<sup>2</sup>, Пейливаньян Э.Г.<sup>1</sup>, Ковтуновская И.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России» Краснодар, Россия (Краснодар, ул. Седина, 4), e-mail: evglandr@ru;

<sup>2</sup>ГБУЗ ДККБ, Краснодар, Россия

---

Работа посвящена изучению влияния сеансов ТЭС-терапии на статус резистентности слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки в эксперименте. Материалом для исследования послужили крысы с язвой ДПК, полученной по методу Szabo. Животных разделили на 3 группы. Первая – животные с язвой ДПК, вторая – предварительные сеансы ТЭС-терапии с последующей язвой ДПК, третья – язва ДПК, затем – ТЭС-терапия. Изучены морфометрические параметры слизистой и статус ядер эпителиоцитов. При этом эффект ТЭС-терапии, предшествующей язвообразованию, сопровождался увеличением пролиферативной активности эпителиоцитов и диаметра ядер с нарастанием площади эухроматиновых ядер. ТЭС на фоне язвы ДПК приводит к нарастанию доли гиперхромных ядер и снижению оптической плотности. Динамика названных параметров свидетельствует о молекулярных преобразованиях слизистой на фоне ТЭС-терапии.

---

Ключевые слова: ТЭС-терапия, слизистая ДПК, оптическая плотность ядер.

## **THE CHANGE OF THE RESISTANCE STATUS OF DUODENUM PROTECTIVE BARRIER AFTER TES-THERAPY SESSIONS**

**Mogilnaya G.M.<sup>1</sup>, Morozova R.V.<sup>2</sup>, Peilivanyan E.G.<sup>1</sup>, Kovtunovskaya I.V.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia (350063, Krasnodar, Sedin st.,4), e-mail: evglandr@ru;

<sup>2</sup>Children's regional clinical hospital, Krasnodar, Russia

---

The work is devoted to the study of the influence of sessions of transcranial electrostimulation (TES) on the resistance status of the mucosa of the duodenum in the experiment. The material for the research were rats with duodenal ulcer received by Szabo method. Animals were divided into 3 groups. The first – animals with duodenal ulcer, the second – preliminary sessions of TES-therapy with the subsequent duodenal ulcer, the third – duodenal ulcer and then TES-therapy. Morphometric parameters of the mucosa and the status of nucleus of epitheliocytes have been studied. Thus the effect of TES-therapy preceding ulceration was followed by an increase in proliferative activity of epitheliocytes and the diameter of nucleus with growth of the area of euchromatin of nucleus. The TES-therapy against an ulcer of the duodenum leads to an increase of the share of heterochromatin nucleus and to decrease in optical density. Dynamics of the mentioned parameters indicates the molecular transformations of the mucosa against TES-therapy.

---

Keywords: TES-therapy, the mucosa of the duodenum, optical density of nucleus.

На основании многолетних экспериментальных и клинических исследований показано, что эффекты транскраниальной электростимуляции (ТЭС) могут быть успешно реализованы в гастроэнтерологии, поскольку они обеспечивают активацию защитных механизмов, а так же могут повышать пролиферативную активность клеток и тканей [2,3]. Эти эффекты связаны с выделением под влиянием ТЭС-терапии эндогенных опиоидов, которые оказывают влияние на формирование защитного барьера желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК). Гастропротективное действие опиоидных пептидов предполагает, что метод электростимуляции эндорфинных механизмов мозга может оказаться патогенетически обоснованным и эффективным в случае наличия язвы ДПК [1,4].

**Цель исследования.** Настоящее исследование посвящено изучению морфофункционального статуса эпителиоцитов и ядер слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки в условиях сочетанного экспериментального язвообразования и ТЭС-терапии.

**Материал и методы.** Материалом для исследования послужили кусочки слизистой оболочки ДПК, полученные от контрольных и двух экспериментальных групп. В качестве контроля использовали группу животных с экспериментальной язвой ДПК, полученной по методу Szabo [5], но без сеансов ТЭС. Экспериментальных групп было две. Первая – это животные, которым до начала введения цистеамина, вызывающего язву ДПК, проводили сеансы ТЭС в анальгетическом режиме с частотой импульсов 79 Гц, длительностью  $3,75 \pm 0,25$  мс, продолжительностью процедуры 30-40 минут. Сеансы ТЭС-терапии проводили в течение 3 дней. Вторая группа – это животные с экспериментальной язвой ДПК и с последующей 3-х дневной ТЭС-терапией. Полученный материал заделывали в парафин. Оценку морфологического статуса слизистой ДПК проводили в срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, для выявления муцинов использовали окраску альциановым синим и ШИК-реакцию. Для избирательного обнаружения ДНК использовали реакцию Фельгена [6]. Изображения клеточных ядер получали в формате TIF с помощью цифровой камеры для микроскопии «ДСМ 310». Анализ изображений проводили с помощью компьютерной программы Scion Image фирмы Scion Corporation. Весь цифровой материал подвергали статистической обработке с использованием программного обеспечения Word Excel.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Изучение ДПК в контрольной группе животных в зоне сформированной язвы показало, что слизистая оболочка отреагировала на язву снижением ее толщины, падением высоты ворсинок и глубины крипт. Так толщина слизистой, которая в интактной группе составила  $668,7 \pm 28,73$  мкм, уменьшилась в 2 раза ( $320 \pm 8,0$  мкм), так же резко снизилась и высота ворсинок. Глубина крипт ДПК в этих условиях уменьшилась на 25%. Для вариации резистентности слизистой нами были выделены две группы: первая группа, где для повышения статуса резистентности слизистой проводили 3-х дневную ТЭС-терапию с последующим моделированием язвы. Во второй группе получали язву ДПК, а потом проводили ТЭС-терапию. Оказалось, что в первой группе животных слизистая оболочка и прежде всего ее толщина по сравнению с интактной слизистой была снижена ( $p < 0,001$ ), но заметно возросла за счет ТЭС-терапии, предшествующей экспериментальной язве ДПК. Высота ворсинок практически не менялась ( $p > 0,05$ ) и приблизилась к уровню контроля, а глубина крипт стала значительно больше, составив в среднем  $189,63 \pm 10,01$  ( $p < 0,001$ ) усл.ед. Изучение ядер эпителиоцитов и клеток

стромы слизистой у этих животных позволило установить значительное увеличение объема ядерной массы, которое сочеталось с увеличением их диаметра, последний в среднем составил  $18,87 \pm 0,22$  усл.ед. Среди группы ядер эпителиоцитов зоны ворсинки преобладали ядра с эухроматином и площадь этих ядер оказалась равной  $12,88 \pm 2,7$ , тогда как ядра с гетерохроматином составили всего лишь  $7,9 \pm 1,9$  усл.ед. Объем волокнистого компонента снизился, а аморфного – увеличился. Функциональный статус ядер изменился и показатель оптической плотности по отношению к уровню контроля возрос на 15 %. Площадь ядерной массы в зоне крипт соответствовала данным, полученным для зоны ворсинок. Среди изученных нами параметров наиболее выраженные изменения касались площади, занятой ядрами с эухроматином, ядра этого типа преобладали и в зоне ворсинок, и в зоне крипт, где они составили в среднем  $12,88 \pm 2,7$  и  $18,19 \pm 0,9$  усл.ед. соответственно. Оптическая плотность ядер в сравниваемых участках ДПК совпала (таблица).

**Результаты компьютерной морфометрии ядер эпителиоцитов двенадцатиперстной кишки в контрольной и экспериментальной группах**

Обследованные группы	Структуры ДПК	Объем ядерной массы	Объем гетерохромных ядер	Объем эухроматинных ядер	Объемная плотность волокнистого компонента	Объемная плотность аморфного компонента	Диаметр ядер	Оптическая плотность ядер
Контрольная	Ворсинка	$9,6 \pm 1,8$	$3,2 \pm 0,09$	$6,4 \pm 1,2$	$31,2 \pm 4,2$	$79 \pm 6,2$	$10,36 \pm 0,58$	$0,39 \pm 0,04$
Контрольная	Крипта	$14,8 \pm 3,6$	$2,96 \pm 0,4$	$11,84 \pm 0,9$	$44,2 \pm 12,2$	$39,74 \pm 5,8$	$10,4 \pm 68$	$0,53 \pm 0,03$
ТЭС терапия и язва	Ворсинка	$23,89 \pm 2,08$	$7,9 \pm 1,9$	$12,88 \pm 2,7$	$18,12 \pm 3,9$	$58,0 \pm 5,7$	$18,87 \pm 0,22$	$0,59 \pm 0,04$
	Крипта	$22,79 \pm 2,07$	$4,6 \pm 0,7$	$18,19 \pm 0,9$	$39,61 \pm 1,8$	$37,6 \pm 1,6$	$17,77 \pm 0,22$	$0,58 \pm 0,04$
Язва и ТЭС-терапия	Ворсинка	$23,83 \pm 1,52$	$14,5 \pm 1,9$	$9,33 \pm 0,9$	$16,1 \pm 1,7$	$60,1 \pm 2,1$	$8,91 \pm 0,23$	$0,45 \pm 0,03$
	Крипта	$22,73 \pm 1,22$	$6,5 \pm 0,4$	$16,23 \pm 0,09$	$28,6 \pm 2,1$	$48,6 \pm 3,4$	$7,71 \pm 0,23$	$0,66 \pm 0,06$

Результаты изучения морфометрических параметров слизистой оболочки во второй экспериментальной группе, где сеансы ТЭС проводили на фоне уже сформированной язвы ДПК показали, что толщина слизистой несколько больше ( $560,98 \pm 57,2$ ), чем в предыдущем эксперименте, но меньше, чем в контроле. В то же время параметры высоты ворсинок и глубины крипт разнятся. Так высота ворсинок составляет  $294,42 \pm 74,47$  и не обнаруживает статистически значимого различия по отношению к уровню контроля, но значительно возрастает по сравнению с данными для ЯБ ДПК без ТЭС. Глубина герминативного компартмента несколько большая, чем в контроле ( $p < 0,01$ ), и в 1,5 раза выше, чем без сеансов ТЭС-терапии.

При изучении ядер эпителиоцитов зоны ворсинок оказалось, что объем ядерной массы не меняется, но диаметр ядер в 2 раза снижается и составляет в среднем  $8,91 \pm 0,23$ . Объем

волокнистого и аморфного компонентов зон ворсинок и крипт практически не меняется. Ядра эпителиоцитов ворсинок снижают оптическую плотность, с увеличением площади ядер с гетерохроматином до  $14,5 \pm 1,9$  (вместо  $7,9 \pm 1,9$ ) в условиях предыдущего эксперимента.

Эпителиоциты зоны крипт в условиях ТЭС - терапии при наличии сформированной язвы ДПК так же характеризуются снижением диаметра ядер более, чем в 2 раза, но соотношение ядер с гетеро- и эухроматином практически не меняется. Вместе с тем оптическая плотность ядер несколько нарастает (но  $p > 0,05$ ). Объем волокнистого компонента в зоне крипт снижается, а аморфного увеличивается.

Изучение уровня содержания муцина являющегося компонентом защитного барьера слизистой ДПК показало, что при наличии язвы его распределение значительно меняется. При этом изменения связаны с увеличением темпа синтеза БГ нейтральных и кислых муцинов, что может трактоваться как факт увеличения резистентности защитного барьера в условиях язвообразования. Это приводит к установлению зависимости между числом функционально активных БГ и их секреторной активностью. Проведение сеансов ТЭС-терапии до язвообразования показало, что нейтральные муцины локализуются преимущественно в БГ зоны крипт. Однако здесь появляются клетки цилиндрической формы с небольшим числом ШИК-реактивных гранул, которые по морфологии соответствуют клеткам «олиго-мукозного» типа. Кислые муцины выявляются в секрете БГ крипт, уровень их содержания от умеренного до интенсивного.

При наличии язвы ДПК сеансы ТЭС-терапии приводят к нарастанию темпа продукции нейтральных муцинов, и они выявляются в секрете БГ и ворсинок, и крипт. Распределение окраски диффузное или пенистое. БГ содержат также и кислые муцины, но уровень их содержания умеренный.

**Заключение.** Таким образом, полученные данные показывают, что сеансы ТЭС-терапии влияют не только на морфометрический статус слизистой, но и на ядра эпителиоцитов и стромы, а также на темп синтеза эпителиоцитами муцина. При этом эффект ТЭС-терапии, предшествующий язвообразованию, проявляется увеличением объема ядерной массы, диаметра ядер, а в зоне крипт и нарастанием общей площади эухроматиновых ядер. Использование сеансов ТЭС на фоне развившейся язвы ДПК приводит к увеличению доли ядродержащего материала и к нарастанию объема гетерохроматиновых ядер в зоне ворсинок и крипт, кроме того ядра зоны ворсинок снижают показатель оптической плотности. БГ крипт снижают темп синтеза нейтральных муцинов, тогда как БГ ворсинок наращивают его. Не исключено, что динамика морфометрических параметров ДПК является результатом изменения статуса ДНК ядер эпителиоцитов и клеток стромы, при этом для

сеансов ТЭС характерны однонаправленные сдвиги, связанные с увеличением объема ядерной массы, что подтверждает эффект активации процесса пролиферации.

Вместе с тем динамика остальных изученных параметров оказалась разнонаправлена, но с учетом максимальных показателей при ТЭС-терапии, предшествующей язве, эти изменения касались диаметра ядер и объема аморфного компонента в зоне ворсинок, тогда как для зоны крипт это было увеличение объема эухроматиновых ядер и волокнистого компонента. ТЭС-терапия после язвы ДПК в зоне ворсинок обеспечила максимальные показатели для объема гиперхромных ядер с падением оптической плотности ядер, а в зоне крипт максимальной оказалась оптическая плотность ядер, составившая  $0,66 \pm 0,06$ . Таким образом, несмотря на разнонаправленность описанных изменений, общим для них является эффект реагирования на ТЭС-терапию, при этом механизм этого действия прослеживается на молекулярном уровне.

### Список литературы

- 1.Каде А.Х. Итоги применения ТЭС-терапии в комплексном лечении детей и подростков с гастродуоденальной патологией / А.Х.Каде, Р.В.Шапоренко // Тез.докл.6-го Всероссийского съезда физиотерапевтов. – СПб, 2006. – С. 218-219.
- 2.Лебедев В.П., Ильинский О.Б., Савченко А.Б. и др. Неинвазивная транскраниальная электростимуляция эндорфинных структур мозга как активатор репарации: экспериментально-клинические параллели// Труды научно-практической конференции «Электростимуляция-2002». – М., 2002. – С. 15-23.
- 3.Транскраниальная электростимуляция. Экспериментально – клинические исследования. // Сборник статей. Под редакцией д.м.н., проф. В.П. Лебедева. – ИПК «Вести». – СПб., 2009. – Т.3. – 392 с. ISBN 978-5-86153-222-8.
- 4.Шапоренко Р.В., Каде А.Х., Назаретян В.Г. Применение транскраниальной электростимуляции при лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки у детей подросткового возраста // Патогенез. – 2004. – Т.2, № 3. – С. 52.
- 5.Szabo S.. // Amer.J.Path. – 1978. – V.93. – P.273 – 276.
- 6.Pearse A. Histochemistry. Theoretical and applied. – London. – 1968. – 561 p.

### Рецензенты:

Александянц Г.Д., д.м.н., профессор, проректор по научно-исследовательской работе ФГБОУ ВПО КГУФКСТ, г. Краснодар;

Абушкевич В.Г., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии ГБОУ ВПО КубГМУ  
Минздрава России, г. Краснодар.