

КЛИНИЧЕСКАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.34-008.6

Ю.П. УСПЕНСКИЙ, Ю.А. ФОМИНЫХ

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова

Двигательная активность тонкой кишки в условиях стресса и эффект спазмолитиков в эксперименте

В статье представлены данные опытов in vivo по влиянию стрессорных факторов на моторику тонкой кишки мышей и результаты оценки пассажа суспензии активированного угля по кишечнику крыс на фоне использования различных спазмолитических препаратов.

Ключевые слова: моторная функция кишечника, стрессорные факторы, суспензия активированного угля, пинаверия бромид (Дицетел), гиосцина бутилбромид (Бускопан), опыт.

YU.P. USPENSKIY, YU.A. FOMINYKH

St. Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov

Motility activity of small intestine at stressogenic condition and spasmolytic effect in the experience

In this article the results of experience in vivo stressogenic factors influence on small intestine motility and activated carbon suspension passage in the rat intestine after different spasmolytic medications using are observed.

Key words: motility functions of intestine, stressogenic factors, activated carbon suspension, pinaverium bromide (Dicetel), hyoscine butylbromide (Buscopan), experience.

Контактное лицо:

Фоминых Юлия Александровна

кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургической гепатологии
Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова
195257, г. Санкт-Петербург, ул. Вавиловых, д. 14, тел.: (812) 555-47-62, 8-921-752-68-39
e-mail: jaf@mail.ru

Доказано, что стресс способствует формированию разнообразных отклонений в организме человека и животных, включая нарушения моторно-эвакуаторной функции кишечника. В то же время количество опубликованных работ, посвященных изучению вопросов оказываемого влияния стрессорных факторов на моторику тонкой кишки, недостаточно, а точки зрения различных авторов порой противоречивы.

Также известно, что на моторную функцию кишечника оказывают влияние лекарственные средства разных фармакологических групп, в том числе установлен значимый эффект спазмолитических препаратов [5]. Чаще всего моделью для изучения различных изменений в живом ор-

ганизме, влияния тех или иных фармакологических препаратов являются животные, т.е. имеет место проведение экспериментов *in vivo* [2, 3].

В Санкт-Петербургском государственном медицинском университете имени И.П. Павлова была выполнена исследовательская экспериментальная работа *in vivo* по изучению моторной функции тонкой кишки в условиях стресса и под влиянием спазмолитической терапии.

Цель первой части проведенного исследования заключалась в изучении оказываемого влияния стрессорных факторов на моторно-эвакуаторную функцию тонкой кишки лабораторных животных.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 50 аутбредных мышей (самцов) весом 18-22 г из Питомника лабораторных животных РАМН «Рапполово». Исследование было проведено согласно Current Protocols in Pharmacology (1998) [11].

До начала исследования для адаптации лабораторные животные находились при групповом содержании в клетках в течение 14 дней. Во время этого периода у мышей ежедневно контролировали клиническое состояние путем визуального осмотра. Животные с обнаруженными отклонениями в экспериментальные группы не включались. Перед началом исследования мыши, отвечающие критериям включения, случайным образом были распределены на группы так, чтобы индивидуальное значение массы не

отклонялось от среднего значения более чем на 10%. Маркировка клетки кодировала пол животных, породу, дату индукции патологии, дату начала введения препарата (суспензия активированного угля), название группы. Каждому отобранному в исследование лабораторному животному был присвоен индивидуальный номер.

Мыши содержались в стандартных условиях в соответствии с «Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных» и ГОСТ Р 53434-2009. Животные содержались в поликарбонатных клетках, группами по 10 особей одного пола, на подстиле. Каждая клетка была покрыта стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением. Площадь дна клетки содержания на одно животное составляла 257 см². В качестве подстилки использовались древесные гранулы (ООО «Биосфера», Санкт-Петербург, Россия). «Корм для содержания лабораторных животных» ПК-120-1, приготовленный по ГОСТ Р 50258-92 в соответствии с нормами утвержденными приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. мыши получали ad libitum в кормовое углубление стальной решетчатой крышки клетки. Животным давали воду, соответствующую СОП АБ 38v2. Воду в стандартных поилках со стальными крышками-носиками, животные получали ad libitum. Мыши содержались в контролируемых условиях окружающей среды: при 20-26°C и относительной влажности воздуха 40-70%. Световой режим составлял 12 часов света

и 12 часов темноты. Был установлен режим проветривания, обеспечивающий около 15 объемов помещения в час, концентрацию CO₂ не более 0,15 объемных %, аммиака — не более 0,001 мг/л. Температура и влажность воздуха регистрировались ежедневно. Существенных отклонений этих параметров в период акклиматизации и в ходе эксперимента зарегистрировано не было.

После акклиматизационного периода были сформированы группы животных, соответственно дизайну эксперимента. Все мыши были разделены на 5 групп по 10 животных в каждой. Одна группа лабораторных животных была контрольной. Остальные четыре группы были экспериментальными с оценкой воздействия различных стрессорных факторов.

Первая экспериментальная группа — с холодовым воздействием при температуре +4°C в течение 1 часа: в отдельные клетки помещали по два животных, с доступом к воде (за 12 часов до начала эксперимента животных лишали корма). Данное разделение было необходимо для предупреждения группирования животных. Далее клетка с мышами помещалась в холодильную камеру с температурой +4°C на 1 час [1, 10].

Во второй группе животным было произведено холодовое воздействие при температуре +4°C длительностью 12 часов с последующим согреванием: животные парами помещались в отдельные клетки, с доступом к воде и полным лишением корма в течение

12 часов. Данное разделение необходимо для предупреждения группирования животных. Далее клетка помещалась в холодильную камеру с температурой +4°C на 12 часов [12, 10].

Лабораторные животные из третьей группы выполняли тест на физическую выносливость. Тест-плавание осуществляли в прозрачных плексигласовых цилиндрах (диаметр 13 см, высота 24 см), заполненные водой на 16 см при температуре 23±2°C. Перед началом теста животных лишали корма на 12 часов, при этом оставляли свободный доступ к воде. Животных помещали в цилиндр. Время плавания для всех животных составило 2 часа [10].

В четвертой экспериментальной группе была выполнена депривация сна по способу Жуве длительностью 12 часов. Для выполнения данной методики был использован способ Жуве, в авторском варианте предложенный для воспроизведения острого неврозоподобного состояния, а в настоящий момент времени и для моделирования стресса [7, 8, 13]. В эксперименте использовали прозрачный стеклянный бассейн (площадь 50 см², высота 30 см), заполненный водой на 3 см при температуре 23±2°C, на дне которого располагались металлические цилиндры, высотой 6 см, на расстоянии 5 см друг от друга. Каждое животное помещали на цилиндр, на котором мышь находилась в течение 12 часов. На протяжении эксперимента животное лишалось корма [10].

Таблица 1.

Показатели прохождения суспензии активированного угля по тонкой кишке мышей в условиях воздействия стрессорных факторов (M±m)

Группа	Участок, покрытый углем, см	Транзит активированного угля, см	Транзит активированного угля, %
контрольная	21,5±2,0 n=10	0,474±0,018 n=10	47,4±4,3 n=10
холодovое воздействие в течение 1 часа	18,5±0,6 n=10	0,393±0,001 n=10	39,3±1,0 n=10
холодovое воздействие длительностью 12 часов с последующим согреванием	26,7±2,9 n=10	0,544±0,066 n=10	54,4±6,6 n=10
тест-плавание	23,3±1,9 n=10	0,480±0,036 n=10	47,9±3,6 n=10
депривация сна по способу Жуве	21,0±1,4 n=10	0,464±0,036 n=10	46,4±3,6 n=10

После воздействия стрессорных факторов животным производили введение суспензии активированного угля через внутрижелудочный зонд в дозе 1 мл/100 г [5]. Через 20 минут производили эвтаназию животных в CO₂ камере. Далее производили измерение общей длины тонкого кишечника и участка, покрытого углем. Оценка пассажа угля производилась путем измерения общей длины тонкого кишечника и участка, покрытого углем, с целью вычисления процента транзита. % транзита = C/Sx 100%, где C — расстояние, содержащее уголь (см), S — общая длина кишки (см).

Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

При изучении воздействия разных стрессорных факторов на прохождение активированного угля по тонкой кишке животных экспериментальных групп было выявлено, что статистически значимых отличий от группы контроля не наблюдалось. Полученные результаты представлены в таблице 1 [10].

Из данных таблицы видно, что при создании холодового стресса у мышей (первая группа) наблюдалось снижение пассажа угля (% транзита составил 39,3±1,0%) по сравнению с группой контрольных животных (47,4±4,3%), а после воздействия холодом с последующим согреванием (лабораторные животные второй группы) — увеличение пассажа (54,4±6,6%). Тест-плавание (третья группа) и лишение мышей быстрой фазы сна по способу Жуве (четвертая группа) не повлияли на работу гладкой мускулатуры тонкой кишки:

процент транзита составил 47,9±3,6 и 46,4±3,6% соответственно.

Цель второй части исследовательской работы заключалась в оценке влияния спазмолитических препаратов на тонкокишечную моторику в опыте *in vivo*.

Материалы и методы

В эксперименте под наблюдением находились 30 крыс Wistar (самцов) весом 200-240 г (Питомник лабораторных животных РМН «Рапполово»). Исследование выполнялось в соответствии с Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики»; Приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»; Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических лекарственных средств; «Guide for the care and use of laboratory animals» [9, 11].

До начала исследования для адаптации крысы находились при групповой содержании в клетках в течение 14 дней. Во время этого периода у животных ежедневно контролировали клиническое состояние путем визуального осмотра. Крысы с обнаруженными отклонениями в экспериментальные группы не включались. Перед началом исследования лабораторные животные, которые отвечали критериям включения в эксперимент, случайным образом были распределены на группы так, чтобы индивидуальное значение массы не отклонялось от среднего значения более чем

на 10%. Маркировка клетки кодировала пол крыс, породу, дату индукции патологии, дату начала введения препаратов (суспензия активированного угля, пинаверия бромид, гиосцина бутилбромид), название группы. Каждому отобранному в исследование лабораторному животному был присвоен индивидуальный номер.

Крысы содержались в стандартных условиях в соответствии с «Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных» и ГОСТ Р 53434-2009 [9, 11]. Лабораторные животные содержались в поликарбонатных клетках, группами по 10 особей одного пола, на подстиле. Каждая клетка была покрыта стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением. Площадь дна клетки содержания на одно животное составляла 257 см². В качестве подстилки использовались древесные гранулы (ООО «Биосфера», Санкт-Петербург, Россия). «Корм для содержания лабораторных животных» ПК-120-1, приготовленный по ГОСТ Р 50258-92 в соответствии с нормами утвержденными приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. крысы получали *ad libitum* в кормовое углубление стальной решетчатой крышки клетки. Животным давали воду, соответствующую СОП АБ 38v2. Воду в стандартных поилках со стальными крышками-носиками, животные получали *ad libitum*. Крысы содержались в контролируемых условиях окружающей среды: при 20-26°C и относительной влажности воздуха 40-70%. Световой режим составлял 12 часов света и 12 часов темноты. Во время опыта был установлен режим проветривания, обеспечивающий около 15 объемов помещения в

Таблица 2.

Влияние спазмолитиков на пассаж суспензии активированного угля по тонкой кишке крыс (M±m)

Группа	Участок, покрытый углем, см	Транзит активированного угля, см	Транзит активированного угля, %
1-ая (контрольная)	75,8±2,3	0,617±0,018	61,7±1,8
2-ая (пинаверия бромид (Дицетел))	53,5±3,7*	0,433±0,034*	43,3±3,4*
3-ья (гиосцина бутилбромид (Бускопан))	59,9±1,7*	0,494±0,020*	49,4±2,0*

* — $p < 0,05$ (различия между группами исследования и контрольной группой статистически достоверны)

час, концентрацию CO₂ не более 0,15 объемных %, аммиака — не более 0,001 мг/л. Температура и влажность воздуха регистрировались ежедневно. Существенных отклонений этих параметров в период акклиматизации и в ходе эксперимента зарегистрировано не было.

До начала эксперимента был произведен расчет доз спазмолитиков (пинаверия бромид, гиосцина бутилбромид) для последующего внутрижелудочного введения лабораторным животным. Расчет терапевтической дозы препарата пинаверия бромида (Дицетел) осуществлялся следующим образом: терапевтическая суточная доза для человека массой 70 кг = 150 мг, т.е. 2,14 мг/кг. С учетом метаболических коэффициентов (крыса — 7, человек — 39) суточная доза для крысы составила: 2,14 мг/кг (терапевтическая доза для человека массой 70 кг) × 39 (коэффициент пересчета для человека массой 70 кг) / 7 (коэффициент пересчета для крысы массой 250 г) = 11,9 мг/кг. Аналогичный расчет дозы был выполнен для препарата гиосцина бутилбромида (Бускопан): терапевтическая суточная доза для человека массой 70 кг = 100 мг, т.е. 1,43 мг/кг. С учетом метаболических коэффициентов (крыса — 7, человек — 39) суточная доза для крысы составила: 1,43 мг/кг (терапевтическая доза для человека массой 70 кг) × 39 (коэффициент пересчета для человека массой 70 кг) / 7 (коэффициент пересчета для крысы массой 250 г) = 7,97 мг/кг.

После акклиматизационного периода крыс, расчета доз препаратов для проведения эксперимента были сформированы группы животных, соответственно запланированному дизайну опыта. Все крысы были разделены на 3 группы по 10 животных в каждой: 1-ая — контрольная, 2-ая — с применением препарата пинаверия бромид (Дицетел) в установленной дозе 11,9 мг/кг, 3-я — с использованием лекарственного средства гиосцина бутилбромида (Бускопан) в дозе 7,97 мг/кг. Расчет доз лекарственных средств был выполнен с учетом терапевтических суточных доз препаратов, метаболических коэффициентов перерасчета.

Через 1 ч. после однократного введения лекарственных препаратов (крысы из 2-ой и 3-ей групп) крысам производили введение суспензии активированного угля через внутрижелудочный зонд в дозе 1 мл/100 г. После истечения 20 минут производили эвтаназию животных в CO₂ камере. Далее выполняли измерение общей длины тонкого кишечника крыс и участка, покрытого активированным углем. Последующая оценка пассажа угля производилась путем измерения общей длины тонкой кишки и участка, покрытого углем, с целью вычисления процента транзита (% транзита = C / SI × 100%, где C — расстояние, содержащее уголь (см), SI — общая длина кишки (см)).

Полученные данные обрабатывались статистически с помо-

щью программного обеспечения Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

В таблице 2 представлено влияние исследуемых спазмолитических средств на прохождение активированного угля по кишечнику экспериментальных животных.

По данным таблицы 2, во 2-ой группе (на фоне применения препарата пинаверия бромид (Дицетел)) транзит активированного угля по кишечнику крыс был наименее выраженным и составил 43,3±3,4%, в то время как у животных 3-ей группы (с использованием гиосцина бутилбромида (Бускопана)) — 49,4±2,0%. По сравнению с пассажем у крыс контрольной группы (61,7±1,8%) полученные данные о снижении транзита в обеих группах исследования были статистически достоверными.

Выводы

1. Примененные стрессорные факторы не влияют на моторику тонкой кишки лабораторных животных в опыте *in vivo*.

2. Спазмолитики — пинаверия бромид (Дицетел) и гиосцина бутилбромида (Бускопан) — положительно влияют на моторику тонкой кишки, уменьшая время транзита активированного угля.

3. Действие препарата пинаверия бромид (Дицетел) является более выраженным, по сравнению с гиосцином бутилбромида (Бускопан).

Литература

1. Бородин Ю.И. Влияние полифенольных соединений из манжетки обыкновенной на морфофункциональное состояние щитовидной железы крыс при действии низких температур / Ю.И. Бородин, В.Г. Селятицкая, Л.А. Обухова, Н.А. Пальчикова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1999. — Т. 127 (6) — С. 697-699.
2. Каркищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии. Справочник. Т. 1 // СПб. — 2002. — 408 с.
3. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования // Москва: ВПК, 2004. — 608 с.
4. Психосоматические расстройства в практике терапевта: руководство для врачей под ред. В.И. Симаненкова. — СПб.: СпецЛит, 2008. — 335 с.: ил.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух частях. Ч. 1. // Медицина. — 1998. — 410 с.
6. Миргородская Е.В. Клинические возможности транскраниальной электро-стимуляции эндорфинэргических структур головного мозга в лечении больных с синдромом раздраженного кишечника: дис. ... канд. мед. наук. — СПб. — 2007.
7. Панов А.Н. Лишение парадоксальной фазы сна у крыс как стрессорный фактор / А.Н. Панов, Н.Л. Рубинская // Физиол. журн. СССР. — 1975 — Т. 61 (12). — С. 1793-1797.

8. Ротенберг В.С. Парадоксальный сон — защита от стресса / В.С. Ротенберг, В.М. Ковальзон, В.Л. Цибульский // Наука в СССР. — 1986. — Т. 2 — С. 45-51.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических лекарственных средств — 2-изд., перераб. и доп. — М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. — 832 с.
10. Успенский Ю.П. Оценка моторной функции кишечника под воздействием различных стрессорных факторов в опытах *in vivo* / Ю.П. Успенский, Ю.А. Фоминых, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров и др. // Профилактическая и клиническая медицина. — 2011. — № 2, том II (39). — С. 114-116.
11. Current protocols in Pharmacology // Wiley Interscience. — 2003 — P. 3489.
12. Guintanar-Stephano J.L. Effect of the exposure to chronic-intermittent cold on the thyrotropin and thyroid hormones in the rat / J.L. Guintanar-Stephano, A. Guintanar-Stephano, L. Castillo-Hernandez // Cryodiology. — 1991. — Vol. 28. — P. 400-403.
13. Jouvet M. Biogenic amines and the states of sleep // Physiol. Rev. — 1967 — Vol. 47 (2). — P. 117-177.