



ЖКТ и отвечать чувством тревоги и беспокойства. Какой же механизм, если не гематологический, способен сигнализировать мозгу об опасности?

Чувствительные нейроны блуждающего нерва контактируют с иммунными клетками субслизистой и проецируют нервные окончания в слизистую ЖКТ – места непосредственного взаимодействия организма и патогена. Выявление Fos белка, синтезируемого в т.ч. нейронами и являющегося маркером функциональной активности, в чувствительных нейронах блуждающего нерва после инокуляции бактерий свидетельствовало о том, что и эта связь осуществляется блуждающим нервом [4, 5]. Гибель кишечных нейронов и поражение глии с изменением экспрессии кислого фибриллярного белка и повышением экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости второго класса отмечалась при болезни Крона, язвенном колите, некротирующем энтероколите и диабете [6].

Целью настоящей работы явилось исследование влияния с комплексных позиций декстрана сульфата натрия (ДСН) на кишечную микрофлору мышей, получение модели неспецифического язвенного колита (НЯК) и подтверждение взаимосвязи оси кишечник–кровь–мозг. Опыты проводились в динамике, но мы остановимся на отдельных конкретных результатах.

**Материалы и методы исследования.** Опыты осуществляли с соблюдением правил содержания и обращения с животными, изложенных в Директивах Европейского сообщества от 22.09.2010 (2010/63/ЕС) и одобренных комитетом по биомедицинской этике при Институте биохимии им. Г. Бунятына НАН РА. Эксперименты проводили на 3-месячных беспородных белых мышках-самцах массой 26-30 г, которые содержались в виварии института в условиях естественного освещения и свободного доступа к воде и пище.

Животные были разделены на группы (n=12): I – мыши, получавшие с питьевой водой 3% ДСН (мол. вес 36000-50000) в течение 7 дней и 4% ДСН в последующие 3 дня и исследованные сразу после прекращения приема ДСН; II – мыши, получавшие 5.1% ДСН с питьевой водой в течение 5 дней и исследованные сразу по окончании приема ДСН; III – мыши, исследованные через 2 недели после прекращения приема ДСН; IV – контрольная группа, в которую были включены здоровые животные, соответствующие по возрасту и полу опытным и получавшие водопроводную воду, которая использовалась для приготовления растворов ДСН.

**Формирование неспецифического язвенного колита у мышей** осуществляли по методу Окаясу в собственной модификации [7].

**Клинико-патологический статус животных** оценивали по индексу активности болезни на основе ряда параметров: а) разница в весе между началом и концом введения ДСН (увеличение веса  $\geq 1$  г – 0 баллов; увеличение веса  $< 1$  г – 1 балл; уменьшение веса  $< 1$  г – 2 балла; уменьшение веса  $\geq 1$  г – 3 балла); б) консистенция стула (нормальный стул – 0 баллов; мягкий, несформированный стул – 1 балл; жидкий стул – 2 балла); в) наличие крови в перианальной области (никаких следов крови в перианальной области – 0 баллов; следы крови в перианальной области – 1 балл; наличие

крови в перианальной области – 2 балла). Длина толстой кишки учитывалась в качестве дополнительного индекса колита [8, 9].

**Морфологические исследования.** Материалом для исследования служили резецированные ткани мозга размером около 0.6×0.6×0.4 см и ткани толстой кишки, взятые у экспериментальных мышей. Морфологическое исследование материала проводилось по общепринятой схеме с последующей заливкой в парафин и приготовлением серийных срезов. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Обзорная характеристика срезов давалась при увеличении микроскопа с окуляром E-PL-10 и объективом A-Plan10/0.25 и A-Plan20/0.25 и 100/0.25.

**Микробиологический анализ.** Животных вскрывали в асептических условиях и для бактериологического анализа забирались образцы кала из нижней части кишки, крови, полученной после декапитации, и смывов с мозга. Все образцы культивировали в питательном бульоне 24 ч при 37°C. Выросшие культуры микроскопировали, пересевали на плотные питательные среды (среда Эндо, солевой и кровяной агар) и инкубировали 24 ч. Пробы крови инкубировали 8 дней с ежедневным контролем роста. Качественный и количественный анализ микробиоты осуществляли на основе характеристики колоний (морфология и биохимия), гемолиза согласно методическим рекомендациям по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями [10].

**Результаты и обсуждение.** В первой, контрольной, группе мышей в мозговой ткани отклонений от физиологической нормы не наблюдалось (рис. 1).

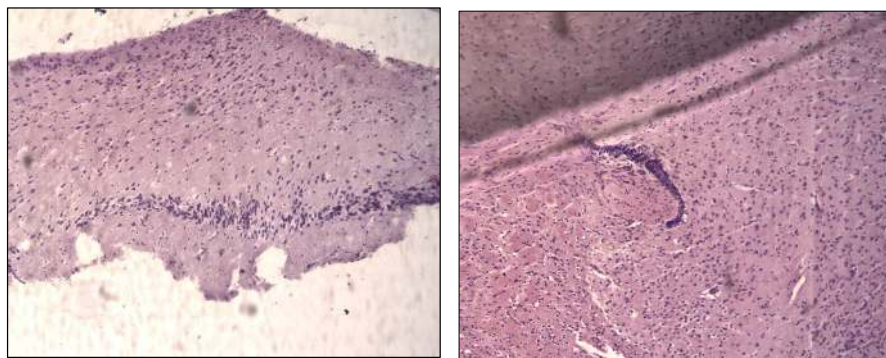


Рис. 1. Мозговая ткань мышей контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином.

В мозговой ткани мышей второй группы наблюдались пролиферация нейроцитов, значительный отек в ткани мозга, расширенные сосуды (рис. 2). В ткани толстой кишки мышей контрольной группы также патологических процессов не обнаружено; четко видна слизистая толстой кишки с мелкими ворсинками, подслизистый слой неширокий, с мелкими сосудиками (рис. 3).

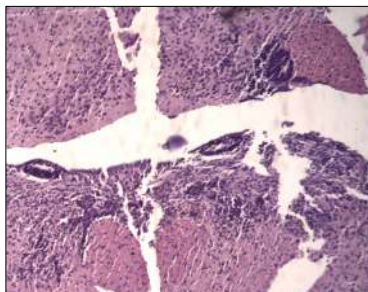


Рис. 2. Мозговая ткань мышей второй группы. Пролиферация нейроцитов, отек, расширенные сосуды. Окраска гематоксилин-эозином.

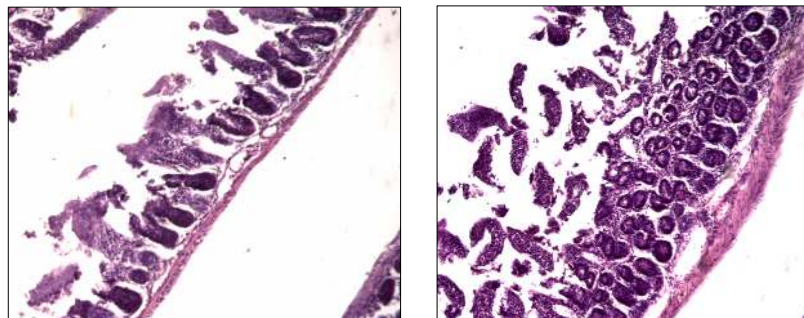


Рис. 3. Ткань толстой кишки мышей контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином.

Гистологическое исследование препаратов толстой кишки опытной группы мышей обращало на себя внимание изменениями в слизистой оболочке кишки. Отмечалась очаговая железистая гиперплазия слизистой, вплоть до развития мелких полипов (рис. 4).

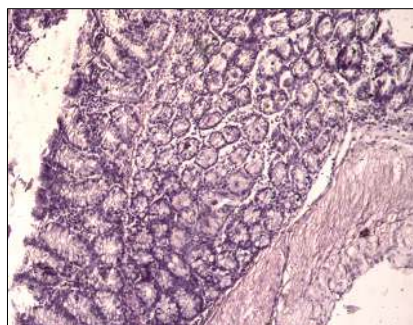


Рис. 4. Толстая кишка мышей опытной группы, очаговая железистая гиперплазия, мелкие полипы. Окраска гематоксилин-эозином.

Кроме того у мышей этой группы в подслизистом слое отмечался отек с расширением подслизистого слоя и повышением количества мелких сосудов в этой зоне (рис. 5).

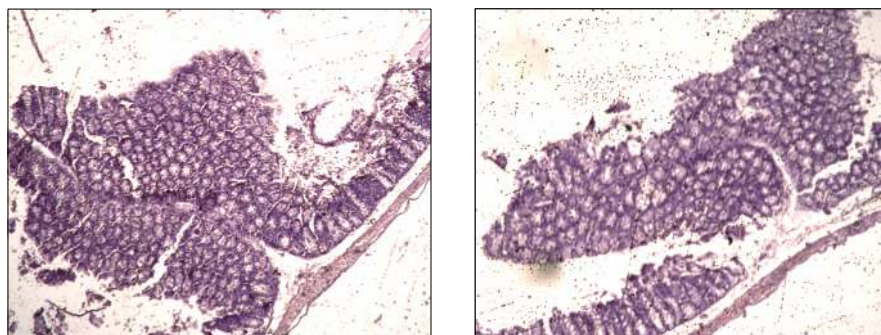


Рис. 5. В подслизистом слое отек, мелкие сосудики (контрольная группа). Окраска гематоксилин-эозином.

Согласно морфогистохимической картине в условиях возникновения НЯК, индуцированного ДНС, естественно возникают вопросы: что же происходит с осью КМО, насколько взаимосвязаны мозг и кишечная микробиота и что является основной составляющей в этом поединке.

Кишечная нервная система представлена двумя популяциями клеток – нейронами и кишечными глиальными клетками (ГК); последние в четыре раза количественно превосходят нейроны. КГ обеспечивают несколько аспектов функционирования кишечника включая перистальтику, микрососудистую циркуляцию, секрецию жидкости, ионов и биологически активных пептидов эпителия, а также барьерную функцию. КГ морфологически и функционально подобна астроцитам ЦНС. Она является ключевым регулятором кишечного гомеостаза и активным участником развития патологии кишечника.

Согласно новой концепции в гастроэнтерологии широкий спектр заболеваний, связанных с нарушением перистальтики, в том числе воспалительные заболевания кишечника, можно диагностировать как кишечную нейропатию. До сих пор неясно, является ли нейропатия следствием болезни или ее причиной.

Учитывая сходство кишечной глии и астроглии мозга, особого внимания заслуживает концепция Сэвиджа и др. о единых механизмах регуляции кишечника и гематоэнцефалического барьера [9]. Глиальные клетки кишечника морфологически, иммуногистохимически и функционально эквивалентны астроцитам ЦНС [11].

Последующей целью настоящего исследования было выявление некоторых условно-патогенных микробов, в частности *E. coli*, провоспалительных *St. aureus*, и сопутствующих грибков рода *Candida*.

Кишечная флора оказывает влияние на сенсорные, моторные и иммунные функции кишечника, а также взаимодействует с высшими нервными центрами [1].

Повышение концентрации микробных токсинов способствует развитию разнообразных патологических процессов в организме человека. Показано, что термолабильные энтеротоксины различных условно-патогенных энтеробактерий, в том числе *E. coli*, вызывают увеличение проницаемости слизистых оболочек ЖКТ [12].

В результате экспериментов наблюдались изменения во внешнем облике и поведении животных: истощенный вид, выделение крови из периаанальной области, брюшина тонкая, цианичная. В посевах на питательные бульоны и последующих пересевах на плотные питательные среды были выявлены следующие микроорганизмы: в смывах с мозга выделялись единичные колонии *E. coli*, а в посевах содержимого толстой кишки были идентифицированы *St. aureus* и гемолитические *E. coli*. В крови кишечные палочки найдены не были, соответственно нельзя говорить о явлении транслокации микробов. Дальнейшие исследования выявили обильный рост *St. aureus* в крови, что напоминало сепсис, о чем свидетельствовали и смывы с мозга. Грибки рода *Candida* также отмечались в значительном количестве в течение всех исследований.

Барьерная функция эпителия является ключевой при развитии воспалительных заболеваний кишечника, при этом нормальное функционирование требует постоянного поддержания баланса между реактивностью и толерантностью к микроорганизмам просвета кишечника. Повышенная проницаемость слизистых оболочек кишечника является основным фактором риска при распространении бактерий. Эпителий, являясь важным элементом тканевых барьеров, обеспечивает избирательный транспорт для передвижения ионов и макромолекул, а также создает препятствие для их проникновения в подлежащие ткани. Контроль за проницаемостью эпителиального слоя осуществляет апикальный межклеточный комплекс – плотные контакты, в состав которого входят белки семейства клаудинов [13, 14].

При острых воспалительных процессах, таких как НЯК, вызванных ДСН, условно-патогенные и патогенные микроорганизмы, колонизируя слизистые оболочки тонкой кишки и образуя биопланки, могут стать источником бактериального токсина, который при нарушении эпителиального пласта проникает в лимфатическую и кровеносную системы, способствуя формированию сепсиса.

Институт биохимии им. Г. Бунятына НАН РА

**А. Г. Геворкян, А. А. Агабабова, Н. Х. Алчуджян,  
М. И. Агаджанов**

### **Изменение микробиоты и морфогистохимические сдвиги у мышей под воздействием декстран сульфата натрия**

Острые воспалительные процессы способствуют тому, что условно-патогенные и патогенные микроорганизмы, колонизируя слизистые оболочки тонкой кишки и образуя биопленки, могут стать источником бактериального токсина,

который при нарушении эпителиального пласта проникает в лимфатическую и кровеносную системы, способствуя формированию сепсиса.

**Ա. Գ. Գևորգյան, Ա. Ա. Աղաբաբովա, Ն. Խ. Ալշուշյան,  
Մ. Ի. Աղաջանով**

**Միկրոբիոտայի փոփոխությունները և մորֆոհիստոքիմիական  
տեղաշարժերը մկների մոտ դեկստրան սուլֆատ  
նատրիումի ազդեցության ներքո**

Սուր բորբոքային պրոցեսները նպաստում են նրան, որ պայմանական պաթոգեն և պաթոգեն միկրոօրգանիզմները գաղութացնում են բարակ աղիների լորձաթաղանթը և կազմելով բիոթաղանթ՝ կարող են դառնալ բակտերիալ տոքսինի աղբյուր, որը էպիթելային պլաստի խախտման դեպքում ներթափանցում է լիմֆատիկ և արյան համակարգեր՝ նպաստելով սեպսիսի զարգացմանը:

**A. G. Gevorkyan, A. A. Agababova, N. Kh. Alchudzhyan,  
M. I. Agadzhanov**

**Changes in the Microbiota and Morphohistochemical Shifts in Mice  
under Influence of Dextran Sodium Natrium**

Acute, inflammatory processes contribute to the fact that conventionally pathogenic and pathogenic microorganisms colonize the mucous membranes of the small intestine and form biofilms, can become a source of bacterial toxin, which, when the epithelial layer breaks, penetrates into the lymphatic and blood systems, contributing to the formation of sepsis.

**Литература**

1. *Бондаренко В. М., Рябченко Е. В.* – ЖМЭИ. 2013. N 2. С. 112-120.
2. *Ahazatora R., O Mahony F., Herveу B. Y.* – Sterolid. 2011. V. 76. P. 861-876.
3. *Бондаренко В. М., Рябченко Е. В.* – ЖМЭИ. 2011. N 6. С. 101-106.
4. *Hanke M. L., Kielian T.* – Clin. Sci. 2011. V. 121. P. 367-387.
5. *Sun Y., Zheng Y. H.* – J. Virol., 2008. V. 82(11). P. 5562-5571.
6. *Vacsoti G., Villanacci V.* – Gastroenterology. 2007. V. 18(30). P. 4035-4041.
7. *Okayasu I., Hatakeyama S., Yamada M., Ohkusa T., Inagaki Y., Nakaya R.* – Gastroenterol. 1990. V. 98. P. 694-702.
8. *Perse M., Cerar A. Y.* – Biomed. Biotechnol. 2012. V. 71. P. 18617.
9. *Savide T. C., Sotroniew M. V.* – Labor. Investig. 2007. V. 87. P. 731-736.
10. *Поздеев О. К., Покровский В. И.* Медицинская микробиология. М. Гэотар-Мед. 1998.
11. *Goehler L. E.* – Lyter, Brain Behar. Immun. 2007. V. 21(16). P. 721-726.
12. *Willis C. L.* – Toxicol. Pathol. 2011. V. 39(1). P. 172-185.
13. *Вишневская О. Н., Рыбальченко О. В., Парионов И. В.* – ЖМЭИ, 2016. N 2. С. 3-9.
14. *Low D., Ngugen D. D.* – Grug Design. Develop. Ther. 2013. 7. P. 1341-1357.