

УДК 619: 616.34.076

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ КИШЕЧНЫХ ВОРСИН У МЫШЕЙ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

А.С. БОБИКОВА¹, студентка,
Д.С. БОЛДЫРЕВА², студентка,
В.Н. АФОНЮШКИН^{2,3}, кандидат биологических наук, заведующий сектором,
Н.А. СИГАРЕВА¹, кандидат биологических наук, доцент

¹ Новосибирский государственный аграрный университет
630039, Россия, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160
e-mail: natalias72@mail.ru

² Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
630090, Новосибирск, ул. Академика Лаврентьева, 8

³ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН
630501, Россия, Новосибирская область, пос. Краснообск
e-mail: lisocim@mail.ru

Изучено состояние слизистой оболочки тонкого отдела кишечника у мышей с метаболическим синдромом. Эксперимент проводили на 26 мышах линии "C57 / black 6", которых разделили на две группы. Животные контрольной группы получали корм с 5%-м содержанием жира, опытной – с 10%-м. Мыши употребляли корм в течение 3 мес. Общая масса мышей опытной группы, которые получали корм с добавлением 10 % жира, оказались выше, чем у мышей контрольной с добавлением 5 % жира. Масса внутренних органов была статистически достоверно ниже у контрольных животных по сравнению с опытными (с метаболическим синдромом). Исследована длина кишечных ворсин методом люминесцентной микроскопии. Фрагменты тонкого кишечника окрашивали красителем Ноеchst 33258. При просмотре окрашенного кишечника с использованием люминесцентного микроскопа делали микрофотографии слизистой оболочки двух групп. Длина кишечных ворсин в контрольной группе в среднем составила 417 мкм, опытной – 563 мкм. У мышей с метаболическим синдромом длина кишечных ворсин слизистой оболочки тонкого кишечника была на 35 % больше, чем аналогичный показатель у животных контрольной группы ($p < 0,05$). Количество кишечных ворсин на единицу площади слизистой тощей кишки у мышей с метаболическим синдромом, было меньше, чем у мышей контрольной группы (42 ± 4 и 90 ± 8 ворсин на 1 мм^2 соответственно). Уменьшение данного показателя у животных с метаболическим синдромом объясняется расширением просвета тонкого отдела кишечника. Увеличение площади всасывания у мышей с метаболическим синдромом следует рассматривать как патологический цикл.

Ключевые слова: метаболический синдром, ворсинки кишечника, слизистая оболочка, тощая кишка.

Распространенность метаболического синдрома в современном обществе прогрессивно увеличивается в течение последних лет, принимая характер эпидемии. Патология проявляется абдоминальным ожирением, гипергликемией, натощак, гипертриглицеридемией, гипертензией и др. В связи с этим особый интерес представляют экспериментальные исследования по моделированию метаболического синдрома у животных с помощью диеты, позволяющие понять причины развития и прогрессирования данного заболевания.

Цель исследования – изучить состояние слизистой оболочки тонкого отдела кишечника у мышей с метаболическим синдромом методом люминесцентной микроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили на базе лаборатории фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины и сектора молекулярной биологии Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока. Эксперимент проводили на 26 мышах линии

“C57 black 6”, которые были разделены на две группы по 12 гол. в каждой: животные контрольной группы получали корм с 5%-м содержанием жира, опытной – с 10%-м. Мышей взвешивали каждые 2 нед. Диета контрольной группы содержала 5 % подсолнечного масла, в опытной в диету включено 2 % подсолнечного масла и 8 % сала [4]. Для приготовления корма смешивали сухое молоко, казеин, крахмал, сахар, подсолнечное масло, лактозу. Далее измельчали целлюлозу (в таблетках), витаминно-минеральную добавку, сало (для опытных животных) и добавляли их в раннее заготовленную смесь. Чтобы придать смеси вид теста, добавляли воду (на 1 кг корма – 100 г воды) в обе диеты. Мыши употребляли корм в течение 3 мес. После взятия крови мышей выводили из эксперимента путем цервикально-церебральной дислокации.

Для изучения ворсинок кишечника использовали метод люминесцентной микроскопии с использованием микроскопа Imager D1 (Zeiss) и программы Axio Vision (Zeiss, Германия). Данные обрабатывали методами вариационной и непараметрической статистики. Статистическую достоверность различий определяли с использованием критерия Стьюдента и метода Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Общая масса мышей опытной группы, которые получали корм с добавлением 10 % жира, была выше, чем у мышей контрольной с добавлением 5 % жира. При статистическом анализе сравнивали долю прироста живой массы мыши в течение эксперимента относительно исходной массы (на начало эксперимента). При сравнении массы органов контрольной и опытной групп наблюдали статистически значимую разницу ($p < 0,05$) у всех органов: сердца, легких, почек, печени, селезенки, абдоминального жира. Масса органов была ниже у группы, которой давали корм с 5%-м содержанием жира, чем у группы с метаболическим синдромом.

По данным исследования [3], мыши линии C57BL 6 в возрасте 20 нед имеют массу $31,8 \pm 2,5$ г. Это соответствует массе, которую мы регистрировали у мышей контрольной группы. Следовательно, в опытной группе, где масса тела превышала 35 г, она была избыточной.

Препараты кишечника готовили по следующей методике. Органы препарировали и помещали в формалин. После фиксации кишечника вынимали из формалина и вырезали небольшие фрагменты для анализа состояния его ворсин. Фрагменты тощей кишки помещали в микропробирки и заливали дистиллированной водой и люминесцентным красителем Hoechst 33258 с исходной концентрацией 1 мг/мл. Краситель вносили 5 мкл на 100–200 мкл объема жидкости.

При просмотре окрашенного кишечника с использованием люминесцентного микроскопа делали микрофотографии слизистой оболочки двух групп. Кишечные ворсины хорошо визуализировались при люминесцентной микроскопии благодаря хорошей светимости ядер клеток при окраске Hoechst 33258. Преимущество данной методики анализа в сравнении с гистологическим исследованием – возможность анализировать большую площадь слизистой кишечника, а также поверхность кишечного эпителия, взаиморасположение кишечных ворсин и форму поперечного сечения. Если серозный слой при гистологическом исследовании в составе поперечного сечения кишечной стенки занимал несколько процентов, то при микроскопии со стороны серозного слоя кишечной трубки хорошо видно, что мезотелиоциты формировали вытянутую структуру и располагались относительно друг друга перпендикулярно с ориентацией относительно продольной оси кишечной трубки.

Длина кишечных ворсин в контрольной группе в среднем составляла 417 мкм: минимальная – 286, максимальная – 515 мкм. Длина ворсин у животных опытной группы в среднем 563 мкм (см. таблицу). Разница между минимальным и максимальным значениями велика, что свидетельствует о неравномерности положения кишечных

Морфометрические параметры слизистой тонкого отдела кишечника у подопытных мышей

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Длина кишечных ворсин в тонком отделе кишечника, мкм ($M \pm m$)	416,8 $\pm$ 11,4	563,3* $\pm$ 14,1
Длина кишечных ворсин в тонком отделе кишечника, мкм (min–max)	286,3–514,7	360–733,1
Концентрация кишечных ворсин в тонком отделе кишечника на 1 мм ² ($M \pm m$)	90 $\pm$ 8	42 $\pm$ 4*

* $p < 0,05$.

ворсин и, как следствие, их большей поверхности всасывания не только сверху, но и боковыми частями.

Между контрольной и опытной группами визуально хорошо прослеживались различия по длине, форме, положению ворсин относительно друг друга (рис. 1, 2).

При определении количества кишечных ворсин на единицу площади наблюдали обратную зависимость. У мышей опытной группы (с метаболическим синдромом) ворсин было меньше, чем у мышей контрольной. В интактной контрольной группе ворсины располагались более плотно друг к другу, образуя из-за слишком высокой плотности ромбовидную форму сверху (см. рис. 2, б). У мышей с метаболическим синдромом, напротив, ворсины располагаются свободнее и имеют более стандартную овальную форму (см. рис. 1, б). По нашему

мнению, это происходит из-за расширения просвета кишечника и увеличения расстояния между ворсинами. Как следует из научной литературы [5–7], образование кишечных ворсин *de novo* в постнатальном онтогенезе практически не происходит, следовательно, изменение концентрации кишечных ворсин на единицу площади слизистой преимущественно происходит за счет растяжения кишечной стенки.

Увеличение площади всасывания слизистой кишечника у мышей с метаболическим синдромом следует рассматривать как патологический цикл, усугубляющий развитие данной патологии. Увеличение расстояния между ворсинками у мышей с метаболическим синдромом может повышать эффективность контакта боковых поверхностей ворсин с бактериальными клетками и макромолекулярными комплексами кормовых масс.

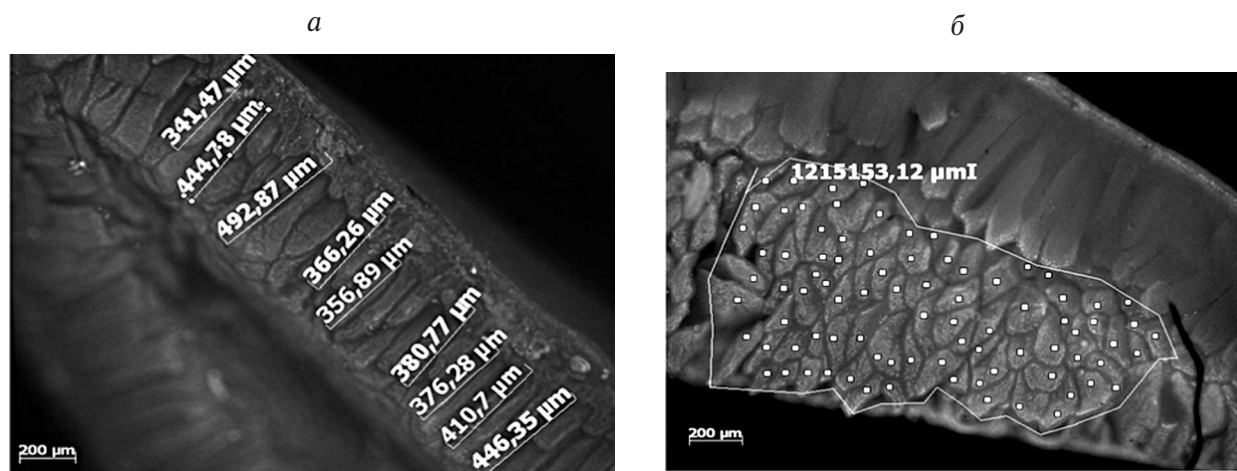


Рис. 1. Микрофотографии тонкого отдела кишечника мышей опытной группы: а – поперечное сечение слизистой; б – вид сверху

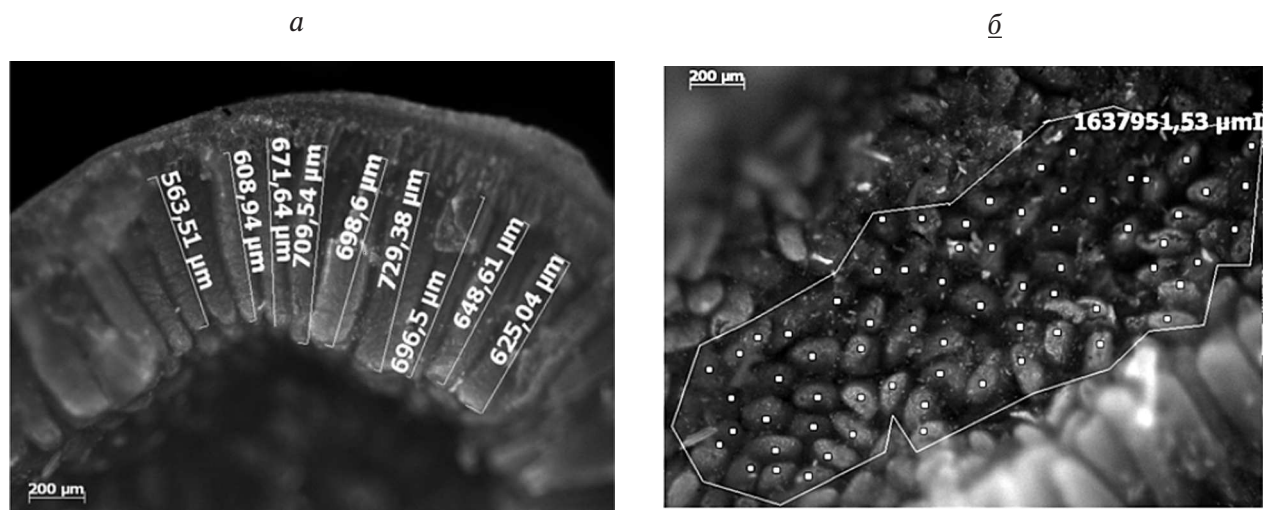


Рис. 2. Микрофотографии тонкого отдела кишечника мышей контрольной группы:
а – поперечное сечение слизистой; б – вид сверху

Увеличение длины кишечных ворсин может происходить с участием гормона роста [8], а также глюкагон-подобного пептида-2 (GLP-2), который продуцируется энтероэндокринными клетками кишечника [9]. Также показан эффект стимуляции продукции GLP-2 длинноцепочечными жирными кислотами [10]. Введение в рацион сала в качестве источника длинноцепочечных жирных кислот (например, стеариновой кислоты) могло быть причиной удлинения кишечных ворсин. Увеличение длины кишечных ворсин при высококалорийной диете наблюдали на линейных мышах с гиперфагией db/+ и на высококалорийной диете (мыши линии C57Bl/6) [11], что полностью согласуется с полученными нами данными.

Таким образом, у мышей с метаболическим синдромом длина кишечных ворсин слизистой оболочки тощей кишки была на 35 % больше, чем аналогичный параметр у мышей контрольной группы ($p < 0,05$), а концентрация кишечных ворсин на единицу площади слизистой – достоверно ниже.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лещенко Д.В., Костюк Н.В., Беякова М.Б., Егорова Е.Н., Миняев М.В., Петрова М.Б. Диетически индуцированные животные модели метаболического синдрома (обзор литературы) // Верхневолж. мед. жур. – 2015. – Т. 14, вып. 2. – С. 34–39.
2. Ройтберг Г.Е. Метаболический синдром / под ред. Г.Е. Ройтберга. – М.: МЕД-пресс-информ, 2007. – 224 с.
3. Body Weight Information for C57BL/6 (000664): [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.jax.org/jax-mice-and-services/strain-data-sheet-pages/body-weight-chart-000664>.
4. Gajda A.M., Pellizzon M.A., Ricci M.R., Ulman E.A. Diet Induced Metabolic Syndrome in Rodent Models animal // LABNEWS. – 2007. – March.
5. Miyoshi M. et al. Anti-obesity effect of Lactobacillus gasseri SBT2055 accompanied by inhibition of pro-inflammatory gene expression in the visceral adipose tissue in diet-induced obese mice // Eur. J. Nutr. – 2014. – Т. 53, N 2. – С. 599–606.
6. Clarke R.M. The effect of growth and of fasting on the number of villi and crypts in the small intestine of the albino rat // J. Anat. – 1972. – N 112. – P. 27–33.
7. Forrester J.M. The number of villi in rat's jejunum and ileum: effect of normal growth, partial enterectomy, and tube feeding // J. Anat. – 1972. – Vol. 111. – P. 283–291.
8. Shulman D., Hu C., Duckett G. et al. Effects of short-term growth hormone therapy in rats undergoing 75% small intestinal resection // J. Pediatr. Gastroenterol Nutr, 1992. – N 14. – P. 3–11.

9. **Drucker D.J.** Biological actions and therapeutic potential of the glucagon-like peptides // *Gastroenterology*. – 2002. – N 122. – P. 531–544.
10. **Xiao Q., Boushey R.P., Drucker D.J. et al.** Secretion of the intestinotropic hormone glucagon-like peptide 2 is differentially regulated by nutrients in humans *Gastroenterology*. – 1999. – N 117. – P. 99–105
11. **Jiaming Mao, Xiaomin Hu, Yao Xiao, Chao Yang, Yi Ding, Ning Hou, Jue Wang, Heping Cheng, Xiuqin Zhang.** Overnutrition Stimulates Intestinal Epithelium Proliferation Through β -Catenin Signaling in Obese Mice // *Diabetes*. – 2013. – N 62 (11). – P. 3736–3746.
5. **Miyoshi M. и et al.** Anti-obesity effect of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 accompanied by inhibition of pro-inflammatory gene expression in the visceral adipose tissue in diet-induced obese mice // *Eur. J. Nutr.* – 2014. – T. 53. – N 2. – C. 599–606.
6. **Clarke R.M.** The effect of growth and of fasting on the number of villi and crypts in the small intestine of the albino rat // *J. Anat.* – 1972. – N 112. – P. 27–33.
7. **Forrester J.M.** The number of villi in rat's jejunum and ileum: effect of normal growth, partial enterectomy, and tube feeding // *J. Anat.* – 1972. – Vol. 111. – P. 283–291.
8. **Shulman D., Hu C., Duckett G. et al.** Effects of short-term growth hormone therapy in rats undergoing 75% small intestinal resection // *J. Pediatr. Gastroenterol Nutr.* 1992. – N 14. – P. 3–11.
9. **Drucker D.J.** Biological actions and therapeutic potential of the glucagon-like peptides // *Gastroenterology*. – 2002. – N 122. – P. 531–544.
10. **Xiao Q., Boushey R.P., Drucker D.J. et al.** secretoryretaryretaryretaryretion of the intestinotropic hormone glucagon-like peptide 2 is differentially regulated by nutrients in humans *Gastroenterology*. – 1999. – N 117. – P. 99–105
11. **Jiaming Mao, Xiaomin Hu, Yao Xiao, Chao Yang, Yi Ding, Ning Hou, Jue Wang, Heping Cheng, Xiuqin Zhang.** Overnutrition Stimulates Intestinal Epithelium Proliferation Through β -Catenin Signaling in Obese Mice // *Diabetes*. – 2013. – N 62 (11). – P. 3736–3746.

REFERENCES

1. **Leshchenko D.V., Kostyuk N.V., Belyakova M.B., Egorova E.N., Minyaev M.V., Petrova M.B.** Dieticheski indutsirovannye zhivotnye modeli metabolicheskogo sindroma (obzor literatury) // *Verkhnevolzh. med. zhur.* – 2015. – T. 14, vyp. 2. – S. 34–39.
2. **Roytberg G.E.** *Metabolicheskiy sindrom* / pod. red. G.E. Roytberga. – M.: MED-pess-inform, 2007. – 224 s.
3. **Body Weight Information for C57BL/6J (000664):** URL: <https://www.jax.org/jax-mice-and-services/strain-data-sheet-pages/body-weight-chart-000664>.
4. **Gajda A.M., Pellizzon M.A., Ricci M.R., Ulman E.A.** Diet Induced Metabolic Syndrome in Rodent Models animal // *LABNEWS*. – 2007. – March.

PECULIARITIES OF THE STRUCTURE OF INTESTINAL VILLI IN MICE WITH METABOLIC SYNDROME

A.S. BOBIKOVA¹, Student,

D.S. BOLDYREVA², Student,

V.N. AFONYUSHKIN^{2,3}, Candidate of Science in Biology, Sector Head,

N.A. SIGAREVA¹, Candidate of Science in Biology, Associate Professor

¹Novosibirsk State Agrarian University

160, Dobrolyubova St, Novosibirsk, 630039, Russia

e-mail: natalias72@mail.ru

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS

8, Akademika Lavrentyeva St, Novosibirsk, 630090, Russia

³Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East, SFSCA RAS

Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia

e-mail: lisocim@mail.ru

The length of intestinal villi in the jejunum of mice with metabolic syndrome (MS) was studied. The aim of research was to study the state of the mucous membrane of the small intestine in mice with MS using the method of luminescence microscopy. The experiment was performed on C57/black 6 line mice, which were divided into 2 groups: control group animals received a feed with 5% fat content, experimental group animals a feed with 10% fat content. The mass of the internal organs was statistically significantly lower in the group fed with 5% fat feed than that in the group of animals with MS. Fragments of the jejunum were stained with Hoechst 33258 dye. The length of intestinal villi in the control group averaged 417 mcm. The length of the villi in the animal test group was on average 563 mcm. In mice with MS, the length of intestinal villi of the jejunal mucosa was 35% more than the analogous parameter in the control group mice ($P < 0.05$). The number of intestinal villi per unit area of the intestinal jejunum mucosa in mice with MS was lesser than that in mice of the control group (42 ± 4 and 90 ± 8 villi per 1 mm^2 , respectively). The decrease in the number of intestinal villi per unit area of the jejunal mucosa in mice with MS is explained by the widening of the lumen of the small intestine. The increase in the suction area in mice with MS should be considered as a pathological cycle, which aggravates the development of MS.

Keywords: mice, metabolic syndrome, intestinal villi, mucosa, jejunum.

Поступила в редакцию 27.06.2017