

## ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНА ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ, ХРОНИЧЕСКОМ ПАНКРЕАТИТЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ, ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КИШЕЧНИКА

Трубицына И. Е., Гуляев А. С., Винокурова Л. В., Парфенов А. И., Ручкина И. Н.,  
Князев О. В., Тарасова Т. В., Смирнова А. В., Варванина Г. Г., Дегтярев Д. А.

Государственное бюджетное учреждение города Москвы «Московский клинический научный центр им. А.С. Логанова», Департамента  
Здравоохранения города Москвы»

## THE CHANGE IN THE CONCENTRATION OF ACETYLCHOLINE IN PEPTIC DUODENAL ULCER DISEASE, CHRONIC ALCOHOLIC PANCREATITIS, INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

Trubitsyna I. E., Gulyaev A. S., Vinokurova L. V., Parfenov A. I., Ruchkina I. N.,  
Knyazev, O.V., Tarasova T.V., Smirnova A.V., Varvanina G.G., Degtyarev D. A.

State budgetary institution of Moscow city "The Loginov Moscow clinical research center of the Department of Health"

### Резюме

**Трубицына  
Ирина Евгеньевна**  
Trubitsyna Irina E.  
ie.trubitsyna@gmail.com

В статье представлены данные об определении ацетилхолина (Ах) и холинэстеразной активности (ХЭ) в сыворотке крови пациентов с ЯБДК, хроническим панкреатитом алкогольной этиологии (АХП) и воспалительными заболеваниями кишечника (язвенный колит, болезнь Крона), ВЗК. Установлено, что практически здоровых лиц можно разделить на три группы, отличающиеся уровнем концентрации ацетилхолина — низкий, средний и высокий. Целью исследований было выявить как меняется концентрация Ах в ответ на заболевание (первично или вторично). Установлено, что концентрация Ах связана с заболеванием и зависит от места локализации патологического процесса. Изменение концентрации медиатора парасимпатической нервной системы может влиять на течение заболевания и является прогностически значимым фактором.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2017; 142 (6): 72–76

### Summary

The article presents data concerning the determination of acetylcholine (Ah) and cholinesterase activity (HAE) in the serum of patients with PUD, chronic pancreatitis of alcoholic etiology (AKHP) and inflammatory bowel disease (ulcerative colitis, Crohn's disease), IBD. Established that healthy individuals can be divided into three groups with different levels of the concentration of acetylcholine — low, medium and high. The aim of the research was to identify how the concentration of Oh in response to the disease (primary or secondary). The concentration of Oh is associated with the disease and depends on the localization of the pathological process. The change in concentration of the mediator of the parasympathetic nervous system can influence the course of the disease is prognostically significant factor.

Experimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2017; 142 (6): 72–76

В развитии полиэтиологических заболеваний переплетено множество равных между собой патологических факторов. Имеющиеся представления о механизмах пато- и саногенеза заболеваний органов пищеварения нашло отражение в смене ряда гипотез и теорий, пытавшихся дать научное объяснение, как причины, так и развитию хронических рецидивирующих заболеваний и на основе этого наметить пути рациональной терапии [1, 2, 3, 4]. Острые и хронические заболевания органов гастродуоденальной зоны рассматривали и рассматривают как локальный патологический процесс. Это результат отсутствия комплексных знаний о биохимических, физиологических, гистохимических изменений структуры и регуляторной деятельности. С накоплением данных стало очевидным, что появление локального повреждения это конечный этап, нарушения механизмов регуляции физиологических процессов.

С давних времен, исследователей привлекает ацетилхолин (Ах) медиатор первого порядка,

который обладает высокой биологической активностью и в физиологических концентрациях он необходим для поддержания нормального функционирования организма [5, 6, 7].

В синапсе парасимпатического отдела вегетативной нервной системы можно выделить несколько уровней синаптической передачи, где возможны регуляторные и фармакологические воздействия:

1. синтез ацетилхолина – зависит от силы нервного импульса и гуморального воздействия на центры регуляции тонуса ВНС в ЦНС
2. процесс высвобождения медиатора – зависит от повышения или снижения амплитуды постсинаптического ответа
3. взаимодействие ацетилхолина с холинорецепторами – зависит от количества, функциональной активности холинорецепторов и уровня активности функционирующих клеток или их мембранного потенциала.

4. обратный захват пресинаптическими окончаниями холина
5. обратный захват пресинаптическими окончаниями ацетилхолина
6. энзиматический гидролиз ацетилхолина, холинэстеразой

При системном действии ацетилхолина преобладают М-холиномиметические эффекты: брадикардия, расширение сосудов, повышение тонуса и сократительной активности мышц бронхов, желудочно-кишечного тракта, увеличение секреции желез бронхов и ЖКТ.

Рецепторы эндогенного Ах локализуются по всему организму. Ах участвует в передаче нервного импульса в ЦНС, вегетативных узлах, окончаниях парасимпатических и двигательных нервов. Для оказания действия Ах мембранные рецепторы не требуются, он диффундирует через плазмолемму клетки-мишени. В цитоплазме клетки-мишени содержится специфический рецепторный белок (Р). Рецепторный белок, которых может быть несколько, связывается с «собственным» медиатором, в данном случае Ах, который влияет на активность и синтез ферментов, белков.

Типы механизма действия Ах на клетку-мишень:

1. стимулятор взаимодействует с рецептором плазмолеммы, индуцируя передачу сигнала внутрь клетки. В результате этого происходит химическое изменение определенных белков (фосфорилирование или дефосфорилирование). Для нейромедиаторов – это метаболитный механизм.

2. стимулятор взаимодействует с рецептором плазмолеммы, который одновременно является и ионным каналом, открывающимся при связывании с регулятором (Ах). Это ионотропный механизм и специфичен для некоторых нейромедиаторов (в н-холинореактивных синапсов).
3. внеклеточный регулятор проникает внутрь клетки-мишени, связывается с цитоплазматическим или ядерным белком-рецептором, являясь транскрипционным фактором, действуя на экспрессию определенных генов.
4. смесь третьего и первого вариантов. Неполярная сигнальная молекула проникает в клетку-мишень, действуя на функционирование регуляторных ферментов, модифицируя определенные белки.

Представляя несколько типов механизма действия нейромедиатора, необходимо учитывать, что Ах имеет мембранные рецепторы практически на всех функционирующих клетках. Проникая в плазмолемму, он активирует синтез белков и ферментов.

Целью наших исследований было определение концентрации нейромедиатора ВНС ацетилхолина, и уровня холинэстеразной активности в сыворотке крови у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (ЯБДК), хроническим панкреатитом алкогольной этиологии (АХП) воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) находившихся на лечении в ЦНИИ гастроэнтерологии и МКНЦ. Проведение этих исследований позволит установить являются ли изменения концентрации Ах первичными и/или вторичными в зависимости от поврежденного органа.

## Материал и методы

В исследование были включены 129 больных ЯБДК, 108 АХП, 69 ВЗК, контрольная группа состояла из 30 добровольцев регулярно проходящих диспансерный профилактический осмотр. У больных и в контрольной группе кровь брали натощак. Все группы были сопоставимы по возрастным и гендерным различиям. Ацетилхолин и холинэстеразную активность в сыворотке крови определяли биохимическим методом Hestrin в собственной модификации (2004) [1].

Статистическую обработку результатов полученных в группах контроля и больных проводили с помощью непараметрического аналога дисперсионного анализа – теста Краскела-Уоллиса и теста Дунна для множественных попарных сравнений [8] в программной среде для статистических вычислений R (пакеты “RMCMR” и “stats”).

## Результаты и обсуждение

На рисунке 2 представлены диаграммы размаха концентраций ацетилхолина и холинэстеразной активности при ЯБДК, АХП, ВЗК и в контрольной группе. Рис. 2 (таблицы 1, 2, 3) Рис. 3.

Результаты теста показали, что локализация патологического процесса влияет на концентрацию

В описательной статистике, чаще всего используется *box plot* компактно изображающий одномерное распределение вероятностей (Рис. 1). «Ящик с усами» в компактной и удобной форме показывает медиану, верхний и нижний квартили, минимумы и максимумы выборки и выбросы (если они есть). (Рисунок 1)

Медиана (*Median*) разбивает выборку на две равные части. Половина значений переменной лежит ниже медианы, половина – выше. Медиана дает общее представление о том, где находится ее центр.

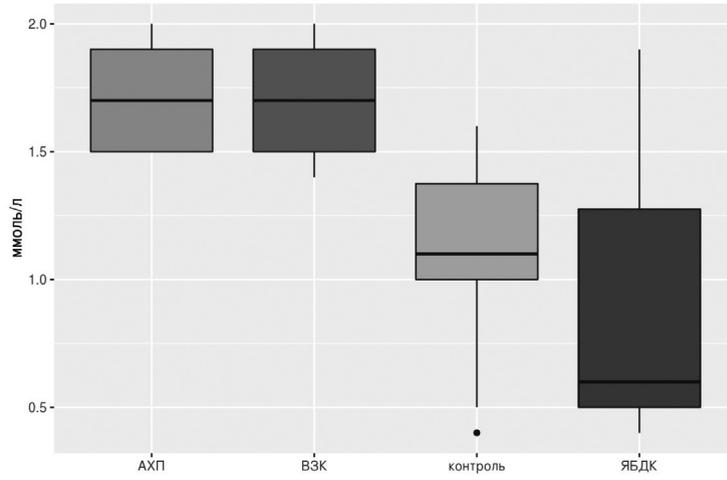
Различают верхний квартиль, который больше медианы и делит пополам верхнюю часть выборки (значения переменной больше медианы), и нижний квартиль, который меньше медианы и делит пополам нижнюю часть выборки.

Ах и уровень холинэстеразной активности в сыворотке крови ( $p < 8.4e-08$ ). Необходимо учитывать, что больные имели длительность заболевания не менее одного года и поступали в стационар на проведение лечения, через 5–10 дней после обострения. (Рис. 4).

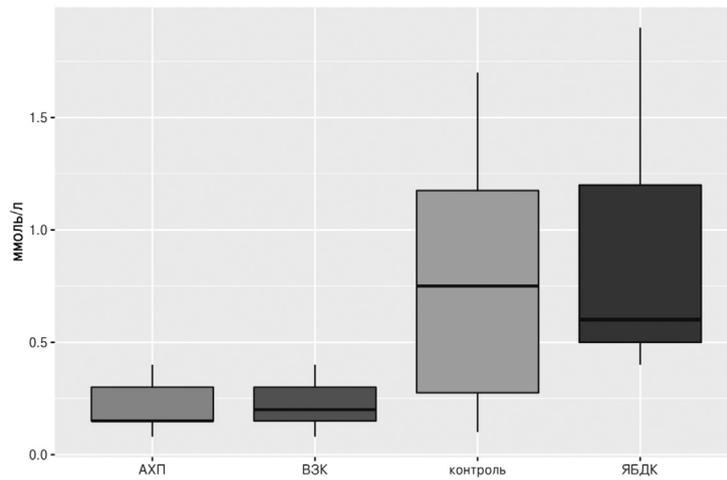
**Рисунок 1.**  
 Диаграмма «ящик с усами»



**Рисунок 2.**  
 Диаграммы размахов концентрации ацетилхолина.



**Рисунок 3.**  
 Диаграммы размахов уровня холинэстеразной активности.



**Рисунок 4.**  
 Схема синапса парасимпатического отдела вегетативной нервной системы.



Показатель	Хи-квадрат	Степени свободы	Уровень значимости (p-value)
Ацетилхолин	85.934	3	< 2.2e-16
Холинэстераза	138.99	3	< 2.2e-16

**Таблица 1**  
Результаты теста Краскела-Уоллиса, проведенного для концентрации Ах и активности ХЭ.

Группы	АХП	ВЗК	Контроль
ВЗК	1	-	-
Контроль	8.4e-08	8.4e-08	-
ЯБДК	5.5e-12	3.5e-12	1

**Таблица 2.**  
Результаты теста Дунна для концентрации Ах. Уровни значимости попарных сравнений указаны на пересечении соответствующих строк и столбцов.

Группы	АХП	ВЗК	Контроль
ВЗК	0.93	-	-
Контроль	5.1e-06	5.1e-06	-
ЯБДК	< 2e-16	< 2e-16	0.14

**Таблица 3.**  
Результаты теста Дунна для активности ХЭ. Уровни значимости попарных сравнений указаны на пересечении соответствующих строк и столбцов.

## Обсуждение

Ацетилхолин синтезируется в цитоплазме холинергических нейронов из холина при участии ацетил-коэнзима А и цитоплазматического энзима холинацетилазы. Ацетилхолин образуется в цитоплазме пресинаптического окончания (может быть не только там?) после этого поступает в синаптические везикулы (пузырьки), которых в синаптическом окончании несколько сотен, в них он депонируется и сохраняется. В каждой везикуле находится тысячи молекул ацетилхолина. Конечная концентрация его в пузырьках высокая, «накачка» Ах осуществляется за счет градиента концентрации протонов (H<sup>+</sup>), протонный насос. Они расположены в мембране везикул, транспортную систему можно обозначить как H<sup>+</sup>-зависимый ацетилхолиновый насос. Высвобождение ацетилхолина происходит в зоне пресинаптических окончаний до пресинаптической мембраны за счет Ca<sup>2+</sup>-каналов. В активных зонах пресинаптической мембраны образуются скопления Ca<sup>2+</sup>. Для высвобождения медиатора – Ах, и не только его, необходимо иметь высокую концентрацию Ca<sup>2+</sup> с обеих сторон мембраны везикулы. С другой стороны в мембране синаптических везикул имеются постоянно функционирующие АТФ-зависимые Ca<sup>2+</sup>-насосы. Конечная концентрация Ах (рис. 4) зависит, от состояния синапса (покой или возбуждение). Нервные импульсы вызывают экзоцитоз легко высвобождающихся фракций ацетилхолина в синаптическую щель, после чего он взаимодействует с холинорецепторами, расположенными на постсинаптической мембране. В процессе функционирования синапса, при изменении режима его активности, путем действия эндогенных и экзогенных нейромодуляторов и на фоне разных видов патологий, синаптическая передача подвергается пластическим изменениям, следствием которых является повышение или снижение амплитуды постсинаптического ответа. Согласно квантово-везикулярной теории модуляции синаптической передачи на пресинаптическом уровне, его перестройка может реализовываться за счет изменения числа квантов медиатора, выделяемых в ответ на

нервный импульс. Величина кванта и кинетика секреции кванта медиатора меняется в ответ на каждый нервный импульс. Механизмы модуляции синаптической передачи могут вносить разный вклад в обеспечение пластичности работы синапса и зависят от исходного состояния синаптического контакта и условий, в которых он находится, и от функционального состояния специфических мембранных рецепторов. При этом результирующий эффект холинергических влияний в определенных условиях может проявляться в стимуляции или ингибировании функционального ответа.

Анализируя полученные данные с большой долей достоверности можно утверждать, что концентрация Ах зависит от места повреждения. Изменение концентрации Ах происходит после заболевания, это вторичные изменения. С другой стороны можно предполагать, что повышение Ах связано со снижением холинэстеразной активности. Концентрация Ах высокая в группах больных с рецидивирующими воспалительными заболеваниями – панкреатит и воспалительные заболевания кишечника. Циркулирующие медиаторы воспаления активируют эфферентные волокна блуждающего нерва. Активация холинергических нейронов медиаторами воспаления приводит к значительному высвобождению Ах (Рис. 4.) На данной схеме показано, что в пресинаптическом окончании в везикулах хранится большое количество Ах. Концентрация Ах в пресинаптическом окончании состоит из легко высвобождаемой фракция, которая необходима для поддержания конститутивной регуляции (Ах<sub>к</sub>). Излишки Ах избежавшие инактивации ХЭ, поступают назад в пресинаптическое окончание, часть Ах «уходит» в кровоток, размещаясь на транспортном белке или проникает в клетки крови. Определенное количество Ах «сбрасывается» в полость кишечника (Рис. 4).

Таким образом, в экстренных случаях концентрации Ах может быть очень высокой, но в таком случае повышается холинэстеразная активность. В «нормальных» условиях эта система фермент (ХЭ) и субстрат (Ах) находится в равновесии.

Мы предполагаем, что при АХП и ВЗК нарушается всасывание белка и нарушается синтез холинэстеразы.

В благоприятных условиях 5 мг фермента (ХЭ) за 30 секунд расщепляют 200 мкмоль ацетилхолина. Продукты распада Ах – ацетат и холин – не способны действовать как нейромедиаторы, но их присутствие в кровотоке сигнализирует о том, что произошло разрушение ацетилхолина и требуется синтез его. Гидролиз Ах – важный этап в проведении нервного импульса. Увеличение количества Ах в синаптической щели при ингибировании ХЭ приводит к стойкой деполяризации постсинаптической мембраны и может вызвать паралич.

В последнее время обсуждается наличие противовоспалительного холинергического пути. Ах связываясь с  $\alpha 7$ -Н-ХР никотиновыми рецепторами, которые располагаются на макрофагах, способствует угнетению высвобождения провоспалительных цитокинов. Возбуждение этой нейронной цепи является эффекторным звеном в снижении воспалительной реакции [9,10]. Это особенно актуально для воспалительных заболеваний таких как АХП и ВЗК. В противовес положительному действию Ах в процессе воспаления нельзя забывать, что Ах, способствует выделению серотонина,

медиатора воспаления, который стимулирует ноцицептивные рецепторы, снижает порог болевой чувствительности.

Установлено, что проверки методами статистического анализа полученных данных может подтвердить или опровергнуть выдвигаемые предположения: 1. Исходный уровень содержания Ах вызывает патологию в органах мишенях (двенадцатиперстная кишка, поджелудочная железа, кишечник). 2. Или уже имеющийся патологический процесс меняет концентрацию Ах в зависимости от пораженного органа. Анализируя данные, получено достоверное подтверждение второго предположения. Тем не менее, в контрольной группе были выявлены две критические области – в зоне нижних и верхних значений концентрации Ах, которые позволяют предположить возможность развития патологического процесса при действии агрессивных факторов – в двенадцатиперстной кишке, поджелудочной железе или кишечнике при высоких значениях Ах. Высокая концентрация Ах в сыворотке крови у больных ХП и ВЗК может способствовать образованию эрозий и/или язв в двенадцатиперстной кишке и высвобождению серотонина (5-НТ).

## Заключение

Таким образом действие Ах многообразно и постоянно. Присутствие его необходимо для осуществления физиологических процессов. Заболевание органов пищеварения меняет концентрацию ацетилхолина и это надо учитывать при проведении

лекарственной терапии и быть готовыми к наличию осложнений, которые влияют на течение основного заболевания. Это требует специального исследования и индивидуального подхода к каждому больному.

## Выводы

Установлены значимые различия в концентрации Ах у больных АХП, ВЗК и ЯБДК. На концентрацию

Ах и уровень ХЭ активности оказывает влияние место локализации патологического процесса.

## Литература

1. Трубицына И. Е. Биологически активные вещества как факторы агрессии и защиты при язве желудка (экспериментально-клиническое исследование), Автореферат докторской диссертации, 2004, стр. 29, Москва
2. Трубицына И. Е., Дроздов В. Н., Рудь М. В. Вариации и частота распределения количественного значения ацетилхолина и холинэстеразной активности в сыворотке крови у здоровых лиц. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2007, № 3, с. 78–81.
3. Винокурова Л. В., Валитова Э. Р., Трубицына И. Е., Шустова С. Г., Яшина Н. И., Ткаченко Е. В. Нарушение гуморальной регуляции внешнесекреторной функции поджелудочной железы при хроническом панкреатите. Терапевтический архив. 2007. Т. 79. № 2. С. 44–48.
4. Винокурова Л. В., Трубицына И. Е. Особенности клинического течения и терапии хронического панкреатита в зависимости от стадии заболевания, // Лечащий врач, 2010, № 2, с. 48–51
5. Винокурова Л. В., Трубицына И. Е., Губина А. В., Чикунова Б. З. Функциональная недостаточность поджелудочной железы и ее коррекция в зависимости от стадии хронического панкреатита // РМЖ, т. 18, № 13(377), с. 837–841, 2010
6. Трубицына И. Е., Винокурова Л. В. Дизрегуляция секреторной активности поджелудочной железы при хроническом панкреатите. Научно-практический журнал Патогенез, 2007, 24.
7. В. Г. Граник «Метаболизм эндогенных соединений» – М.: Вузовская книга, 2006. – 528 с.].
8. Kruskal W.H, Wallis W. A. Use of ranks in one-criterion variance analysis // Journal of the American Statistical Association, volume 47, issue 260, – 1952 – p. 583–621.
9. Винокурова Л. В., Трубицына И. Е., Царегородцева Т. М., Яшина Н. И., Хацко И. В., Живаева Н. С. Роль нейромедиаторов и цитокинов в патогенезе хронического алкогольного панкреатита // Тер. Архив., том 80, № 2, 2008, стр. 75–78
10. Кислякова Е. А. Трибутирин в коррекции послеоперационных нарушений электрической активности тонкой кишки (экспериментальное исследование) Автореферат кандидатской диссертации, 2016, стр. 27, Москва.