

Е.А. ГРИГОРЬЕВА, В.С. ГОРДОВА, В.Е. СЕРГЕЕВА, А.Т. СМОРОДЧЕНКО

ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СЕРОТОНИНА В ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ПОСТУПЛЕНИЯ КРЕМНИЯ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ

Ключевые слова: кремний, аморфный диоксид кремния, силикаты, печень, фиброз, серотонин, биогенные амины, тромбоциты.

В работе представлены данные по изменению интенсивности люминесценции серотонина в структурах печени крыс, находившихся в эксперименте с поступлением кремния с питьевой водой в течение двух и девяти месяцев. А также рассмотрены и обсуждены возможные причины выявленных изменений.

Цель исследования – соотнести серотониновый статус печени с количеством иммунокомпетентных клеток (эозинофилов, тучных клеток, CD68-позитивных клеток) и с показателями периферической крови на разных сроках эксперимента с поступлением кремния с питьевой водой.

Материал и методы. Крысы были разделены на две группы: контрольная группа ($n = 20$) получала питьевую бутилированную воду, опытная ($n = 20$) – ту же самую воду, но с добавлением $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний. Животные находились в свободном доступе к источнику воды. Кровь забирала из хвостовой вены для анализа до начала эксперимента, а также через 2 и 9 месяцев от его начала. По истечении двух и девяти месяцев крысы были выведены из эксперимента. Из одной части печени изготавливали свежие замороженные срезы толщиной 10 мкм для постановки реакции Фалька–Хиларпа, другая часть печени помещалась в 10%-ный раствор формалина для последующей заливки в парафин. После депарафинизации срезы обрабатывались различными методиками для подсчета иммунокомпетентных клеток: гематоксилином и эозином (эозинофилы), толуидиновым синим по Унна (тучные клетки), непрямым иммуногистохимическим методом (CD68-позитивные клетки). Различия во всех случаях считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Обнаружено увеличение интенсивности люминесценции серотонина в изучаемых структурах печени (гепатоциты, оболочки центральных вен, люминесцирующие гранулярные клетки и их микроокружение) крыс опытной группы. При этом зафиксировано возрастание их интенсивности в 2-3 раза в печени крыс, находившихся в эксперименте в течение 9 месяцев. Выявлено, что количество тромбоцитов, эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, смеси моноцитов, эозинофилов, базофилов и незрелых клеток в крови крыс, получавших кремний с питьевой водой в концентрации 20 мг/л, находится в обратной зависимости от срока эксперимента. На обоих сроках наблюдали увеличение количества эозинофилов в области портальных зон, а также увеличение площади тучных клеток. Через 2 месяца эксперимента в печени крыс опытной группы увеличивалось количество CD68-позитивных клеток и тучных клеток, а через 9 месяцев их число выравнивалось и уменьшалось соответственно. Обращено внимание на участие вышеизложенных иммунокомпетентных клеток в метаболизме серотонина. Обсуждается вовлечение серотонина в процессы физиологической и репаративной регенерации печени.

Выводы. Изменение количества, площадей иммунокомпетентных клеток (эозинофилов, тучных клеток, макрофагов) печени крыс опытных групп, а также уменьшение содержания тромбоцитов в их крови сопряжено с увеличением интенсивности люминесценции серотонина в содержащих его структурах печени.

Введение. Серотонин (5-гидрокситриптамин) – биогенный амин, который обнаруживается во всех тканях и органах млекопитающих. Он образуется из аминокислоты триптофана в присутствии фермента, который может существовать в двух изоформах – триптофан-гидроксилаза-1 и -2 (Trp1 и Trp2).

Однако в некоторых случаях из триптофана при участии ферментов индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO) может образовываться кинуренин. Серотонин обнаруживается как в нервной системе (центральная, автономная), так и вне нее. При этом «периферический» серотонин в основном синтезируется в энтерохромаффинных клетках желудочно-кишечного тракта при участии триптофан-гидроксилазы-1. Серотонин способен оказывать воздействие на нейроны в стенке кишечника, тем самым регулировать его физиологическую функцию, в том числе перистальтику. Активность фермента в энтерохромаффинных клетках изменяется под действием многих факторов [25]. Так, например, в ответ на паразитарную инвазию синтез серотонина увеличивается под действием CD4-лимфоцитов и интерлейкина-13 [23]. Серотонин, вырабатываемый энтерохромаффинными клетками, подвергается разрушению путем его поглощения энтероцитами слизистой оболочки кишечника через транспортер серотонина (SERT) с последующим взаимодействием с моноаминоксидазой (MAO) или же транспортировкой в систему кровообращения через капиллярные русла подслизистой оболочки стенки кишечника. Попавший в кровяной серотонин поглощается тромбоцитами с помощью SERT-транспортера [21]. В свою очередь, тромбоциты, циркулируя по кровеносному руслу, способны высвобождать серотонин, вызывая сужение сосудов и повышая свертываемость крови [20, 25]. Серотонин, находящийся вне тромбоцитов, свободно растворим в плазме и участвует в передаче сигналов в периферических тканях [25]. Метаболизм серотонина непосредственно связан с ферментом моноаминоксидазой, при этом наибольшим сродством к серотонину обладает моноаминоксидаза-A (MAO-A). Продуктом катаболизма серотонина является 5-гидроксииндолилуксусная кислота, которая выводится из организма с мочой [8]. Таким образом, содержание серотонина в организме зависит не только от количества поступающего триптофана, но и от активности ферментов, участвующих в его метаболизме.

Ранее рядом авторов было обнаружено, что серотонин оказывает влияние на процессы регенерации печени [16, 19]. Ими выявлено, что серотонин из тромбоцитов способен инициировать регенерацию печени после частичной гепатэктомии, в том числе путем улучшения кровотока, что благоприятствует пролиферации гепатоцитов. Кроме того, холангиоциты способны использовать серотонин для паракринной регуляции регенерации желчных ходов [16, 19].

В то же время известно, что при деградации серотонина образуются активные формы кислорода, которые на моделях грызунов приводили к развитию стеатогепатита. Известно, что серотонин усугубляет течение вирусного гепатита за счет вазоактивного действия на сосудистое русло. Данный биогенный амин может способствовать прогрессированию фиброза и росту гепатоцеллюлярной карциномы печени [19, 22]. D.M. Culafic et al. выявили, что в плазме крови больных циррозом печени содержание серотонина было выше, чем у здоровых лиц. При этом среднее содержание серотонина в тромбоцитах практически не отличалось. Хотя количество тромбоцитов у лиц с циррозом печени значительно уменьшалось [13].

Нами было обнаружено, что интенсивность люминесценции серотонина в люминесцирующих гранулярных клетках в собственной пластинке слизистой кишечных ворсинок тонкой кишки крыс контрольной и опытной групп, находившихся в условиях дополнительного поступления кремния с питьевой водой в течение двух месяцев, была сопоставимой, а при пролонгировании данного

эксперимента до девяти месяцев наблюдалось увеличение интенсивности в тех же самых структурах практически в 1,5 раза. При этом определялось статистически значимое увеличение интенсивности люминесценции серотонина в опытной группе в сравнении с аналогичным показателем в контрольной [1]. Поэтому интересно было бы узнать, как будет изменяться серотониновый статус печени в тех же самых условиях эксперимента с учетом значительной роли данного биогенного амина в поддержании функционального состояния изучаемого органа.

Цель исследования – соотнести серотониновый статус печени с количеством иммунокомпетентных клеток (эозинофилов, тучных клеток, CD68-позитивных клеток) и с показателями периферической крови на разных сроках эксперимента (2 и 9 месяцев) после поступления кремния с питьевой водой в концентрации 20 мг/л.

Материал и методы исследования. Эксперимент проведен на белых нелинейных лабораторных крысах, которые находились в обычных условиях вивария при естественном освещении. Животные были разделены на две группы: контрольная группа ($n = 20$) получала питьевую бутилированную воду, опытная ($n = 20$) – ту же самую воду, но с добавлением девятиводного метасиликата натрия в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний. Определение массовой концентрации растворенных форм кремния проводилось с помощью спектрометра эмиссионного с индуктивно связанной плазмой 5110 ICP-OES. Так, в питьевой воде, получаемой животными контрольной группы, содержалось кремния 10 мг/л, а в воде, получаемой опытной группой, – 20 мг/л, что соответствовало предельно допустимым концентрациям кремния в питьевой воде согласно действующему ранее СанПиН 2.1.4.1116-02¹ и в настоящее время СанПиН 1.2.3685-21². Животные находились в свободном доступе к источнику воды. Забор крови из хвостовой вены осуществлялся до начала эксперимента, а также через 2 и 9 месяцев от начала эксперимента. Общий анализ крови проводили в испытательной лаборатории «Агро-Инновации» на автоматическом гематологическом анализаторе HEMALITE 1280VET. По истечении двух и девяти месяцев крысы были выведены из эксперимента. Часть извлеченной печени замораживали в криостате для последующего приготовления свежих замороженных срезов толщиной 10 мкм и постановки реакции Фалька–Хиларпа в модификации Е.М. Крохиной [1], другую часть печени помещали в 10%-ный раствор формалина для последующей заливки в парафин. После депарафинизации срезы окрашивали гематоксилином и эозином, толуидиновым синим по Унна, а также использовали непрямой иммуногистохимический метод для выявления CD68-позитивных клеток [2].

Для определения интенсивности люминесценции серотонина использовали люминесцентный микроскоп ЛЮАМ-4 при длине его возбуждающего света 480 нм (светофильтр № 8) и насадку ФМЭЛ-1А с выходным напряжением 900 В.

¹ СанПиН 2.1.4.1116-02 Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы: утв. главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 19.03.2002 г. (с изм. на 28.06.2010) [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/901816045>.

² СанПиН 1.2.3685-21 Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы: утв. главным государственным санитарным врачом Российской Федерации от 28.01.2021 г. (с изм. на 30.12.2022) [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/573500115>.

Показания снимались с ЖК-дисплея мультиметра (модель DT-830B) при постоянном напряжении 200 В в условных единицах флуоресценции (у. е.). Подсчитывали количество и площадь иммунокомпетентных клеток печени по микрофотографиям, сделанным с помощью фотокамеры AmScope (MU 1000) с микроскопа МИК-МЕД-6 при увеличении объектива $\times 40$ (CD68-позитивные клетки), $\times 100$ (тучные клетки, эозинофилы). Площадь микрофотографии при увеличении объектива $\times 40$ составила 93 119,06 мкм², при увеличении объектива $\times 100$ – 15 025,15 мкм².

Расчет индекса дегрануляции (ИДГ) тучных клеток проводили по формуле, предложенной Д.П. Линднер и др. (1980):

$$\text{ИДГ} = (A \cdot 0 + B \cdot 1 + V \cdot 2 + G \cdot 3) / n,$$

где А – неактивные клетки; В – слабо дегранулирующие клетки; V – клетки с умеренной дегрануляцией; G – клетки с сильной дегрануляцией; n – общее число клеток [6].

С целью оценки сульфатированности гепарина подсчитывался ранговый индекс сульфатирования (ИС), который равнялся

$$(\alpha \cdot 0 + \beta_1 \cdot 1 + \beta_2 \cdot 2 + \beta_3 \cdot 3 + \gamma \cdot 4) / n,$$

где α – число α -ортохроматических тучных клеток; β_1 – число β_1 -метахроматических тучных клеток; β_2 – число β_2 -метахроматических тучных клеток; β_3 – число β_3 -метахроматических тучных клеток; γ – число γ -метахроматических тучных клеток; n – суммарное число проанализированных тучных клеток [6].

Все замеры, полученные в ходе цитоспектрофлуориметрии, морфометрии, проверяли на нормальность распределения с использованием критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. В случае нормального распределения данные представлялись в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, а m – стандартная ошибка среднего значения. Для показателей интенсивности люминесценции серотонина, которые имели нормальное распределение, но малые показатели стандартной ошибки среднего значения, данные представлялись в виде $M \pm \sigma$, где σ – стандартное отклонение. Различия между значениями средних величин контрольной и опытной групп определяли с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок. В выборках, где распределение отличалось от нормального, определяли медиану (Me) и интерквартильный размах (L25; U75). Статистическую значимость различий медиан оценивали с использованием U-критерия Манна–Уитни. Различия во всех случаях считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

В целях определения взаимосвязи между изучаемыми клетками (эозинофилами, тучными клетками, макрофагами) печени и содержащими серотонин структурами проведен кластерный анализ с использованием коэффициента корреляции в качестве меры сходства. Кластеризация проводилась методом полной связи или «дальнего соседа», когда расстояние между двумя кластерами равно расстоянию между двумя самыми удаленными точками [7].

Результаты исследования и их обсуждение. В препаратах печени, обработанных методом Фалька–Хиларпа в модификации Е.М. Крохиной [1], в качестве ориентира для обнаружения печеночных долек использовались центральные вены, которые имели четкий темный просвет. Общий фон препарата имел темно-зеленый цвет. Люминесцирующие гранулярные клетки (ЛГК) располагались преимущественно вокруг сосудов и между печеночными балками и имели цвет от желто-зеленого до золотисто-желтого. Измерение интенсивности люминесценции серотонина проводили в четко визуализирующихся структурах печени: гепатоцитах, оболочках центральных вен, люминесцирующих

гранулярных клетках и их микроокружении. Данные замеров представлены в таблице.

Интенсивность люминесценции серотонина в структурах печени крыс, у.е.

Структура печени	Срок эксперимента			
	2 месяца		9 месяцев	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Оболочки центральных вен	0,17±0,04	0,21±0,05*	0,73±0,17	0,81±0,24*
Гепатоциты	0,35±0,13	0,45±0,11*	1,06±0,17	1,24±0,27*
Люминесцирующие гранулярные клетки (ЛГК)	0,79±0,29	1,17±0,28*	2,71±1,08	3,55±1,14*
Микроокружение ЛГК	0,52±0,19	0,81±0,09*	1,02±0,59	1,75±0,59*

Примечание. * – статистически значимые различия средних величин, $p < 0,05$.

Анализ данных таблицы позволяет сделать вывод, что интенсивность люминесценции серотонина в исследуемых структурах печени крыс увеличивается с возрастом, что заметно при сравнении данных контрольных групп. Помимо этого наблюдается увеличение интенсивности серотонина в структурах печени крыс опытных групп в сравнении с аналогичным показателем в контрольных как через два, так и через девять месяцев эксперимента.

На срезах печени, окрашенных гематоксилином и эозином, подсчитано среднее количество эозинофилов, тучных клеток (ТК) и CD68-позитивных макрофагов на микрофотографию в каждой из экспериментальных групп (рис. 1).

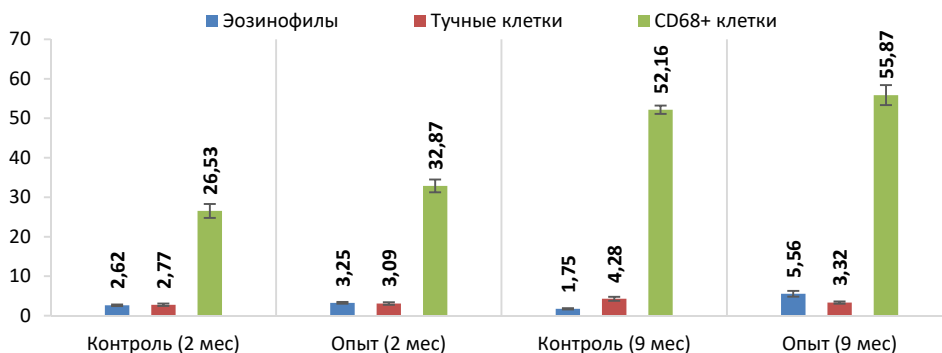


Рис. 1. Количество иммунокомпетентных клеток печени крыс, находившихся в эксперименте с поступлением кремния с питьевой водой в течение 2 и 9 месяцев, шт.

Обнаружено, что количество эозинофилов увеличивается в области портальных зон печени крыс опытной группы в 1,25 и 3,29 раза через 2 и 9 месяцев в сравнении с таковыми показателями для контрольной группы соответственно. В то же время среднее количество тучных клеток печени, визуализирующихся при окраске толудиновым синим по Унна, возрастает в 1,11 раза через 2 месяца от начала эксперимента и уменьшается в 0,77 раза через 9 месяцев в опытной группе. Параллельно, замечено увеличение площади тучных клеток в печени крыс: через 2 месяца в контрольной группе площадь ТК составила $23,61 \pm 2,01$ мкм², в опытной группе – $30,72 \pm 0,99$ мкм²; через 9 месяцев – $27,42 \pm 0,84$ мкм² и $32,64 \pm 1,09$ мкм² соответственно ($p < 0,05$). Рассчитывали индекс дегрануляции тучных клеток по формуле, предложенной Д.П. Линднер

и др. (1980): через 2 месяца от начала эксперимента в печени крыс опытной группы выявлено его увеличение на 54% в сравнении с показателем контрольной группы крыс, а через 9 месяцев эксперимента уменьшение на 76% в печени крыс опытной группы в сравнении с таковым в контрольной. В то же время индекс сульфатированности (ИС) тучных клеток печени крыс опытной группы, получавших водорастворимый кремний, увеличивался на 207% через 2 месяца и уменьшался на 60% через 9 месяцев эксперимента. Количество CD68-позитивных клеток в печени крыс, получавших кремний с питьевой водой в течение двух месяцев, возрастало в 1,32 раза ($p < 0,05$) на микрофотографию, при этом медиана площади макрофагов печени крыс контрольной (29,95 (17,69; 47,30)) и опытной (29,85 (18,23; 48,36)) групп практически не различалась. Через 9 месяцев эксперимента среднее количество CD68-позитивных клеток на микрофотографию было сопоставимым в контрольной и опытной группах. Медиана площади CD68-позитивных клеток печени крыс контрольной группы составила 79,41 (53,75; 108,23), а для опытной группы – 40,76 (22,84; 65,51) ($p < 0,05$).

Заслуживающие внимания изменения крови лабораторных крыс, находившихся в эксперименте в течение 2 и 9 месяцев, представлены на рис. 2. Забор крови произведен до начала эксперимента, через 2 и 9 месяцев от начала эксперимента (рис. 2).

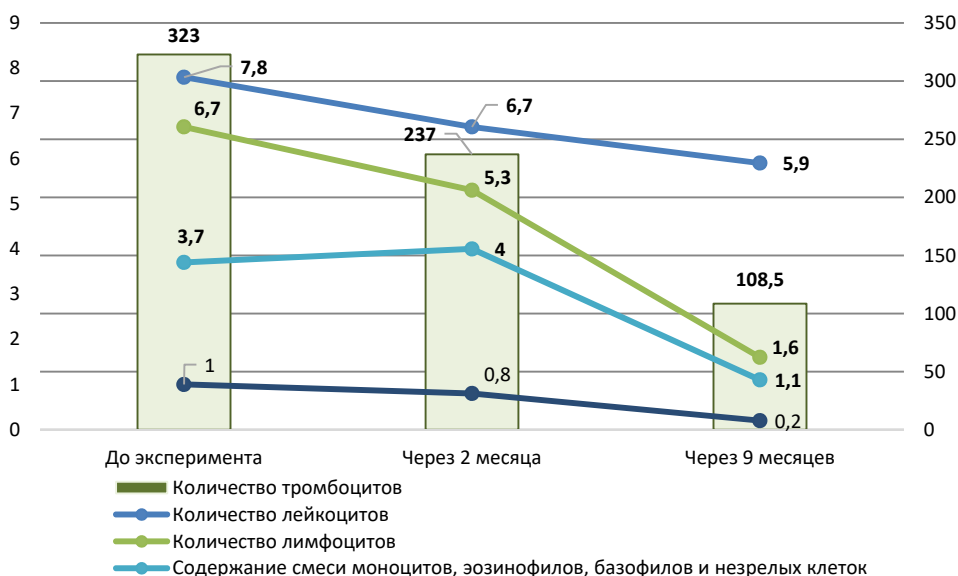


Рис. 2. Изменения некоторых показателей крови крыс, находившихся в эксперименте с поступлением кремния с питьевой водой в течение двух и девяти месяцев

Выявлено уменьшение среднего количества лейкоцитов (10⁹/л) в крови крыс в 0,79 раза через 2 месяца от начала эксперимента и в 0,23 раза через 9 месяцев. Количество лимфоцитов (10⁹/л) через 2 месяца практически не изменялось, а через 9 месяцев также уменьшалось в 0,29 раза в крови крыс опытной группы, находившихся в эксперименте в течение девяти месяцев. Отмечено снижение содержания общей смеси моноцитов, эозинофилов, базофилов и незрелых клеток

($10^9/L$) в 0,8 и 0,2 раза в крови крыс опытной группы через 2 и 9 месяцев. Обнаружено изменение количества эритроцитов ($10^{12}/L$), гемоглобина (g/L), гематокрита (%) в крови животных опытной группы крыс, получавших кремний в течение двух месяцев, в 0,85, 0,72, 0,81 раза соответственно и через 9 месяцев в 0,75, 0,60, 0,72 раза соответственно. Количество тромбоцитов ($10^9/L$) в крови крыс опытной групп сохраняло ту же тенденцию, что и предыдущие показатели. Так, их число уменьшалось в 0,73 раза в крови крыс, выведенных из эксперимента через 2 месяца, и в 0,33 раза – через 9 месяцев. Таким образом, выявлено снижение всех форменных элементов крови у крыс, получавших кремний с питьевой водой в течение как двух, так и девяти месяцев.

Кластерный анализ позволил выделить два кластера в печени крыс контрольной группы, находившейся в эксперименте в течение двух месяцев: первый кластер объединял среднее количество CD68-позитивных клеток с изменениями интенсивности люминесценции серотонина в микроокружении люминесцирующих гранулярных клеток (ЛГК), количество тучных клеток, интенсивность люминесценции в ЛГК и количество эозинофилов (1-г Пирсона < 0,21); второй кластер содержал два параметра – интенсивность люминесценции серотонина в оболочках центральных вен и гепатоцитах (1-г Пирсона < 0,15). В печени крыс опытной группы через два месяца эксперимента также выявлялись два кластера: первый объединял среднее количество CD68-позитивных клеток и эозинофилов с интенсивностью люминесценции серотонина в гепатоцитах (1-г Пирсона < 0,04); второй – интенсивность люминесценции серотонина в ЛГК и его микроокружении, а также в оболочках центральных вен (1-г Пирсона < 0,08). Параметры «среднее количество тучных клеток на микрофотографию» объединялись с двумя предыдущими кластерами (1-г Пирсона < 0,55). Через девять месяцев эксперимента в печени крыс контрольной группы определялись два кластера, один из них содержал среднее количество CD68-позитивных клеток и тучных клеток, а также интенсивность люминесценции серотонина в оболочках центральных вен (1-г Пирсона < 0,16), второй включал среднее количество эозинофилов, интенсивность люминесценции серотонина в ЛГК и гепатоцитах (1-г Пирсона < 0,08). Интенсивность люминесценции серотонина в микроокружении ЛГК объединялась с предыдущими кластерами (1-г Пирсона < 0,37). В печени крыс, получавших кремний с питьевой водой в течение девяти месяцев, первый кластер содержал среднее количество CD68-позитивных клеток и интенсивность люминесценции серотонина в ЛГК, оболочках центральных вен и гепатоцитах (1-г Пирсона < 0,14), второй кластер – среднее число тучных клеток, эозинофилов на микрофотографию и интенсивность люминесценции серотонина в микроокружении ЛГК (1-г Пирсона < 0,12). Оба кластера объединялись между собой (1-г Пирсона < 0,55). Данные кластерного анализа позволили сделать вывод, что изучаемые параметры коррелируют между собой.

Ранее О.Б. Сеин с соавт. выявили возрастное повышение содержания серотонина в крови у животных (кроликов, собак) [10]. В исследованиях Y. Yonezawa et al. обнаружено, что серотонин в тромбоцитах крови крыс в молодом возрасте (6–7 месяцев) составляет $0,65 \text{ нмоль}/10^8$, несколько повышается к возрасту 12–14 месяцев, но заметно снижается в пожилом возрасте (25–26 месяцев) [26]. Учитывая, роль серотонина в регенерации печени [16, 19], а также изменения в морфологии органа (уменьшение размеров печени, числа гепатоцитов, накопление липофуцина и другие), возникающие с возрастом [5], можно предположить, что увеличение содержания биогенного амина связано с непосредственным их участием в процессах восстановления изучаемого органа. Кроме того, наши

предыдущие исследования показали, что у крыс опытной группы, которые получали питьевую воду с добавлением девятиводного метасиликата натрия в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний в течение девяти месяцев, наблюдалось ускорение физиологического старения тимуса, селезенки [1] и полученные нами данные косвенно подтверждают схожие процессы в печени.

Выявленные изменения индекса дегрануляции и индекса сульфатированности тучных клеток печени, в том числе увеличение их у крыс контрольной группы, вероятно, связаны с процессами старения организма. В то же время уменьшение ИД и ИС тучных клеток печени крыс опытной группы через 9 месяцев эксперимента сопряжено со снижением процессов созревания тучных клеток [9].

Печень является одним из немногих органов, которые могут восстанавливаться даже при выраженном (более 50%) повреждении ее ткани, что, вероятно, связано с ее многофункциональностью и незаменимостью. Известно, что с возрастом способность к регенерации несколько ухудшается, что доказано многочисленными экспериментами, проведенными на лабораторных животных, посредством проведения гепатэктомии [15, 27]. Так, было обнаружено, что использование агонистов рецепторов серотонина тромбоцитов приводило к усилению пролиферации гепатоцитов печени даже у старых крыс. Однако, как мы уже ранее упоминали, серотонин может также стимулировать пролиферацию опухолевых клеток, ангиогенез и окислительный стресс в органе [15]. Помимо всего Wen Y. et al. обнаружили, что высвобождение серотонина из энтерохромаффинных клеток происходит через IL-33/ST2 механизм, который в последующем путем воздействия на HTR2A/p70S6K гепатоцитов стимулирует их пролиферацию [24]. При этом транспортерами серотонина выступают тромбоциты.

Для тучных клеток и эозинофилов характерна презентация 5-HT рецепторов 2-го типа, при взаимодействии серотонина с рецептором активизируется цитоскелет этих клеток, и они мигрируют к месту повреждения [12]. Кроме того, тучные клетки сами могут быть источниками серотонина. Он может храниться и вырабатываться в них [18]. Серотонин, высвобождаемый из тучных клеток и тромбоцитов, способен выступать в качестве хемоаттрактанта и участвовать в рекрутизации эозинофилов [14, 17]. Моноциты и их производные (дендритные клетки и макрофаги) также экспрессируют на своей поверхности широкий спектр 5-HT-рецепторов [12]. Установлено, что воздействие на 5-HT рецепторы 4- и 5-го типов способствует секреции интерлейкинов (IL-1 β , IL-6, IL-8/CXCL8, IL-12p40) и ФНО- α , тогда как активация 5-HT рецепторов 3-го типа модулирует секрецию IL-6, IL-8/CXCL8 и IL-1 β , но не оказывает влияния на продукцию IL-12p40 и ФНО- α [12]. Помимо всего сами макрофаги тоже могут быть источником серотонина [11].

Таким образом, в ходе лабораторного, гистохимического, морфологического исследования обнаружено уменьшение форменных элементов крови в общем анализе крови лабораторных крыс, при этом отмечены увеличение количества эозинофилов в ткани печени на обоих сроках эксперимента, а также количества тучных клеток и CD68-позитивных клеток через 2 месяца и уменьшение их количества через 9 месяцев. Интересно, что количество тромбоцитов в крови также уменьшается, при этом наблюдается рост интенсивности люминесценции серотонина в структурах печени. Сравнивая собственные данные с результатами, полученными ранее другими учеными, можно предположить, что интенсивность последнего увеличивается в связи с высвобождением его из тромбоцитов. Кроме того, полученные результаты в совокупности с наблюдаемыми нами

ранее изменениями морфологии печени крыс опытных групп [3, 4] дают более четкое представление о роли серотонина в развивающихся в печени процессах на фоне поступления кремния с питьевой водой.

Выводы. Изменение количества и площадей иммунокомпетентных клеток (эозинофилов, тучных клеток, макрофагов) печени крыс, получавших кремний с питьевой водой в концентрации 20 мг/л в течение двух и девяти месяцев, а также уменьшение содержания тромбоцитов в их крови, сопряжено с увеличением интенсивности люминесценции серотонина в структурах печени крыс.

Литература

1. Гордова В.С., Сергеева В.Е., Сапожников С.П. Морфологическая адаптация внутренних органов к поступлению в организм водорастворимого соединения кремния. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2021. 208 с.
2. Григорьева Е.А., Гордова В.С., Сергеева В.Е., Смородченко А.Т. Реакция CD68-позитивных клеток печени и селезенки крыс на поступление кремния с питьевой водой // Acta medica Eurasica. 2021. № 2. С. 34–43. URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/5>.
3. Григорьева Е.А., Коршунова А.И. Морфологическая характеристика структур печени при поступлении кремния с питьевой водой в различные сроки эксперимента // Актуальные проблемы биомедицины – 2020: сб. тез. XXVI Всерос. Конф. молодых учёных с междунар. участием (Санкт-Петербург, 26–27 марта 2020 г.). СПб.: Первый Санкт-Петербургский гос. мед. Ун-т им. академика И.П. Павлова, 2020. С. 368–369.
4. Григорьева Е.А. Морфологические особенности печени при воздействии водорастворимого соединения кремния // Медицинский академический журнал. 2016. Т. 16, № 4. С. 71–72.
5. Калинин А.Л. Морфологические и патофизиологические особенности печени у пожилых пациентов // Проблемы здоровья и экологии. 2016. № 1(47). С. 13–17.
6. Количественная оценка сульфатирования тучных клеток / Л.Ю. Ильина, С.П. Сапожников, В.А. Козлов и др. // Acta medica Eurasica. 2020. № 2. С. 43–53.
7. Мудров В.А. Алгоритмы использования кластерного анализа в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS // Забайкальский медицинский вестник. 2020. № 4. С. 215–221.
8. Некоторые аспекты влияния серотонина на морфофункциональное состояние печени и процессы её регенерации / В.Ю. Шур, М.А. Самотруева, М.В. Мажитова и др. // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 4. С. 432.
9. Садек А., Храмова Ю.С., Юшков Б.Г. Тучные клетки как биомаркеры «Inflamm-aging» // Российский иммунологический журнал. 2022. Т. 25, № 3. С. 299–304.
10. Сеин О.Б., Михайлов К.А., Саргсян Э.Г., Холоша А.С. Функциональная активность серотонинергической системы у домашних животных в возрастном аспекте // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. № 5. С. 97–102.
11. Селиашвили Р.И., Балмасова И.П., Стаурина Л.Н. Серотонин и его иммунофизиологические эффекты // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. 2013. Т. 99, № 1. С. 17–32.
12. Терентьев А.А., Лычкова А.Э., Казимирский А.Н., Пузиков А.М. Моноаминергическая регуляция иммунитета. Часть I // ЭИКГ. 2016. № 3(127). С. 32–39.
13. Culafic D.M., Mirkovic D.S., Vukcevic M.D. et al. Plasma and platelet serotonin levels in patients with liver cirrhosis. *World J Gastroenterol.*, 2007, vol. 13(43), pp. 5750–5753. DOI: 10.3748/wjg.v13.i43.5750.
14. De Giovanni M., Dang E.V., Chen K.Y., An J. et al. Platelets and mast cells promote pathogenic eosinophil recruitment during invasive fungal infection via the 5-HIAA-GPR35 ligand-receptor system. *Immunity*, 2023, vol. 56(7), pp. 1548–1560.e5. DOI: 10.1016/j.immuni.2023.05.006.
15. Furrer K., Rickenbacher A., Tian Y. et al. Serotonin reverts age-related capillarization and failure of regeneration in the liver through a VEGF-dependent pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, vol. 108(7), pp. 2945–2950. DOI: 10.1073/pnas.1012531108.
16. Huang W., Han N., Du L. et al. A narrative review of liver regeneration-from models to molecular basis. *Ann Transl Med.*, 2021, vol. 9(22), p. 1705. DOI: 10.21037/atm-21-5234.
17. Kang B.N., Ha S.G., Bahaie N.S. et al. Regulation of serotonin-induced trafficking and migration of eosinophils. *PLoS One*, 2013, vol. 8(1). e54840. DOI: 10.1371/journal.pone.0054840.
18. Kushnir-Sukhov N.M., Brown J.M., Wu Y, Kirshenbaum A. et al. Human mast cells are capable of serotonin synthesis and release. *J Allergy Clin Immunol.*, 2007, vol. 119(2), pp. 498–499. DOI: 10.1016/j.jaci.2006.09.003.
19. Lesurtel M., Soll C., Humar B., Clavien P.A. Serotonin: a double-edged sword for the liver? *Surgeon*, 2012, vol. 10(2), pp. 107–113. DOI: 10.1016/j.surge.2011.11.002.

20. Lopez-Vilchez I., Diaz-Ricart M., White J.G. et al. Serotonin enhances platelet procoagulant properties and their activation induced during platelet tissue factor uptake. *Cardiovasc Res.*, 2009, vol. 84(2), pp. 309–316. DOI: 10.1093/cvr/cvp205.

21. Mercado C.P., Kilic F. Molecular mechanisms of SERT in platelets: regulation of plasma serotonin levels. *Mol Interv.*, 2010, vol. 10(4), pp. 231–241.

22. Ruddell R.G., Oakley F., Hussain Z. et al. A role for serotonin (5-HT) in hepatic stellate cell function and liver fibrosis. *Am J Pathol.*, 2006, vol. 169(3), pp. 861–876. DOI: 10.2353/ajpath.2006.050767.

23. Wang H., Steeds J., Motomura Y. et al. CD4+ T cell-mediated immunological control of enterochromaffin cell hyperplasia and 5-hydroxytryptamine production in enteric infection. *Gut.*, 2007, vol. 56(7), pp. 949–957.

24. Wen Y., Emontzpoehl C., Xu L. et al. Interleukin-33 facilitates liver regeneration through serotonin-involved gut-liver axis. *Hepatology.*, 2023, vol. 77(5), pp. 1580–1592. DOI: 10.1002/hep.32744.

25. Yabut J.M., Crane J.D., Green A.E. et al. Emerging Roles for Serotonin in Regulating Metabolism: New Implications for an Ancient Molecule. *Endocrine reviews.*, 2019, vol. 40(4), pp. 1092–1107. DOI: 10.1210/er.2018-00283.

26. Yonezawa Y., Kondo H., Nomaguchi T.A. Age-related changes in serotonin content and its release reaction of rat platelets. *Mech Ageing Dev.*, 1989, vol. 47(1), pp. 65–75. DOI: 10.1016/0047-6374(89)90008-0.

27. Yoshizumi T., Itoh S., Imai D. et al. Impact of platelets and serotonin on liver regeneration after living donor hepatectomy. *Transplant Proc.*, 2015, vol. 47(3), pp. 683–685. DOI: 10.1016/j.transproceed.2014.11.050.

ГРИГОРЬЕВА ЕВГЕНИЯ АЛЕКСАНДРОВНА – аспирантка кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (shgrev@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3626-2750>).

ГОРДОВА ВАЛЕНТИНА СЕРГЕЕВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной медицины медицинского института, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Россия, Калининград (crataegi@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5109-9862>).

СЕРГЕЕВА ВАЛЕНТИНА ЕФРЕМОВНА – доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (kaf-biology@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3471-5226>).

СМОРОДЧЕНКО АЛИНА ТИХОНОВНА – доктор медицинских наук, профессор кафедры анатомии, Медицинская школа Берлина – Университет здоровья и медицины, Германия, Берлин (alinasmoro@yahoo.de; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1415-1531>).

Evgeniia A. GRIGOREVA, Valentina S. GORDOVA,
Valentina E. SERGEEVA, Alina T. SMORODCHENKO

POSSIBLE CAUSES OF CHANGES IN SEROTONIN CONTENT IN THE LIVER OF RATS IN CONDITIONS OF CHRONIC INTAKE OF SILICON WITH DRINKING WATER

Key words: silicon, amorphous silicon dioxide, silicates, liver, fibrosis, serotonin, biogenic amines, platelets.

The paper presents data on changes in the intensity of serotonin luminescence in the liver structures of rats who were in an experiment with the intake of silicon with drinking water for two and nine months. The possible causes of identified changes are also considered and discussed.

The aim of the study was to correlate the serotonin status of the liver with the number of immunocompetent cells (eosinophils, mast cells, CD68-positive cells) and with peripheral blood indicators in different periods of the experiment with the intake of silicon with drinking water.

Material and methods. The rats were divided into two groups: the control group ($n = 20$) received bottled drinking water, the experimental group ($n = 20$) received the same water, but supplemented with $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ at the concentration of 10 mg/l in terms of silicon. The animals had free access to a water source. Blood was taken from the caudal vein for analysis before the start of the experiment, as well as in 2 and 9 months after its start. After two and nine months, the rats were withdrawn from the experiment. Fresh frozen slices with a thickness of 10 microns were prepared from one part of the liver to perform the Falk–Hillarj reaction, the other part of the liver was placed in a 10%

formalin solution for subsequent paraffin embedding. After deparaffination, the sections were processed by various methods for counting immunocompetent cells: by hematoxylin and eosin (eosinophils), by Unna's toluidine blue (mast cells), by indirect immunohistochemical method (CD68-positive cells). The differences in all cases were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results and their discussion. An increase in the intensity of serotonin luminescence was found in the studied liver structures (hepatocytes, central vein membranes, luminescent granular cells and their microenvironment) in rats of the experimental group. At this, an increase in their intensity by 2-3 times was recorded in the liver of rats who were in the experiment for 9 months. It was revealed that the number of platelets, erythrocytes, hemoglobin, leukocytes, a mixture of monocytes, eosinophils, basophils and immature cells in the blood of rats treated with silicon with drinking water at a concentration of 20 mg/l is inversely dependent on the duration of the experiment. At both terms, an increase in the number of eosinophils in the portal zones was observed, as well as an increase in the area of mast cells. After 2 months of the experiment, the number of CD68-positive cells and mast cells increased in the liver of rats of the experimental group, and after 9 months their number equalized and decreased, respectively. Attention is drawn to the participation of the above-mentioned immunocompetent cells in serotonin metabolism. Serotonin involvement in the processes of physiological and reparative liver regeneration is discussed.

Conclusions. Changes in the number and areas of immunocompetent cells (eosinophils, mast cells, macrophages) in the liver of rats making the experimental groups, as well as a decrease in the platelet content in their blood are associated with an increase in the intensity of serotonin luminescence in the liver structures containing it.

References

1. Gordova V.S., Sergeeva V.E., Sapozhnikov S.P. *Morfologicheskaya adaptatsiya vnutrennikh organov k postupleniyu v organizm vodorastvorimogo soedineniya kremniya* [Morphological adaptation of internal organs to intake of a water-soluble compound silicon]. Cheboksary, 2021, 208 p.
2. Grigor'eva E.A., Gordova V.S., Sergeeva V.E., Smorodchenko A.T. *Reaktsiya CD68-pozitivnykh kletok pecheni i selezenki krysa na postuplenie kremniya s pit'evoi vodoi* [Reaction of CD68-positive rat liver and spleen cells on silicon intake with drinking water]. *Acta medica Eurasica*, 2021, no. 2, pp. 34–43. URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/5/>.
3. Grigor'eva E.A., Korshunova A.I. *Morfologicheskaya kharakteristika struktur pecheni pri postuplenii kremniya s pit'evoi vodoi v razlichnye sroki eksperimenta* [Morphological characteristics of liver structures upon intake of silicon with drinking water at different periods of the experiment]. *Aktual'nye problemy biomeditsiny – 2020 : sbornik tezisov XXVI Vserossiiskoi konferentsii molodykh uchenykh s mezhdunarodnym uchastiem, St. Peterburg, 26–27 marta 2020 g.* [Proc. of 26th Sci. Conf. «Actual Problems of Biomedicine – 2020»]. St. Peterburg, 2020, pp. 368–369.
4. Grigor'eva E.A. *Morfologicheskie osobennosti pecheni pri vozdeistvii vodorastvorimogo soedineniya kremniya* [Morphological features of the liver when exposed to a water-soluble silicon compound]. *Meditsinskii akademicheskii zhurnal*, 2016, vol. 16, no. 4, pp. 71–72.
5. Kalinin A.L. *Morfologicheskie i patofiziologicheskie osobennosti pecheni u pozhilykh patsientov* [The morphological and pathophysiological features of the liver in elderly patients]. *Problemy zdorov'ya i ekologii*, 2016, vol. 1(47), pp. 13–17.
6. Il'ina L.Yu., Sapozhnikov S.P., Kozlov V.A., D'yachkova I.M., Gordova V.S. *Kolichestvennaya otsenka sulfatirovaniya tuchnykh kletok* [Quantitative evaluation of mast cells sulfation]. *Acta medica Eurasica*, 2020, no. 2, pp. 43–53.
7. Mudrov V.A. *Algoritmy ispol'zovaniya klasternogo analiza v biomeditsinskikh issledovaniyakh s pomoshch'yu paketa programm SPSS* [Cluster analysis algorithms in biomedical research using the software package]. *Zabaikal'skii meditsinskii vestnik*, 2020, no. 4, pp. 215–221.
8. Shur V.Yu., Samotrueva M.A., Mazhitova M.V., Trizno N.N., Bednov I.A., Shur Ju.V. *Nekotorye aspekty vliyaniya serotoninina na morfofunktsional'noe sostoyanie pecheni i protsessy ee regeneratsii* [Some aspects of the influence of serotonin on the morphofunctional state of the liver and its regeneration processes]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*, 2015, no. 4, p. 432.
9. Sadek A., Khramtsova Yu.S., Yushkov B.G. *Tuchnye kletki kak biomarkery «Inflamm-aging»* [Mast cells as biomarkers of Inflamm-aging]. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal*, 2022, vol. 25, no. 3, pp. 299–304.
10. Sein O.B., Mikhailov K.A., Sargsyan E.G., Kholosha A.S. *Funktsional'naya aktivnost' serotoninergicheskoi sistemy u domashnikh zhivotnykh v vozrastnom aspekte* [Functional activity of the serotoninergic system at animal domestic age in the age]. *Vestnik Kurskoi gosudarstvennoi sel'skokhozyaistvennoi akademii*, 2018, no. 5, pp. 97–102.
11. Sepiashvili R.I., Balmasova I.P., Staurina L.N. *Serotonin i ego immunofiziologicheskie efekty* [Serotonin and its immune and physiological effects]. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova*, 2013, vol. 99, no. 1, pp. 17–32.

12. Terent'ev A.A., Lychkova A.E., Kazimirskii A.N., Puzikov A.M. *Monoaminergicheskaya regulyatsiya immuniteta. Chast' I* [Serotonergic regulation of immunity. Part 1]. *EiKG*, 2016, vol. 3(127), pp. 32–39.
13. Culafic D.M., Mirkovic D.S., Vukcevic M.D. et al. Plasma and platelet serotonin levels in patients with liver cirrhosis. *World J Gastroenterol.*, 2007, vol. 13(43), pp. 5750–5753. DOI: 10.3748/wjg.v13.i43.5750.
14. De Giovanni M., Dang E.V., Chen K.Y., An J. et al. Platelets and mast cells promote pathogenic eosinophil recruitment during invasive fungal infection via the 5-HIAA-GPR35 ligand-receptor system. *Immunity*, 2023, vol. 56(7), pp. 1548–1560.e5. DOI: 10.1016/j.immuni.2023.05.006.
15. Furrer K., Rickenbacher A., Tian Y. et al. Serotonin reverts age-related capillarization and failure of regeneration in the liver through a VEGF-dependent pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, vol. 108(7), pp. 2945–2950. DOI: 10.1073/pnas.1012531108.
16. Huang W., Han N., Du L. et al. A narrative review of liver regeneration-from models to molecular basis. *Ann Transl Med.*, 2021, vol. 9(22), p. 1705. DOI: 10.21037/atm-21-5234.
17. Kang B.N., Ha S.G., Bahaie N.S. et al. Regulation of serotonin-induced trafficking and migration of eosinophils. *PLoS One*, 2013, vol. 8(1), e54840. DOI: 10.1371/journal.pone.0054840.
18. Kushnir-Sukhov N.M., Brown J.M., Wu Y, Kirshenbaum A. et al. Human mast cells are capable of serotonin synthesis and release. *J Allergy Clin Immunol.*, 2007, vol. 119(2), pp. 498–499. DOI: 10.1016/j.jaci.2006.09.003.
19. Lesurtel M., Soll C., Humar B., Clavien P.A. Serotonin: a double-edged sword for the liver? *Surgeon*, 2012, vol. 10(2), pp. 107–113. DOI: 10.1016/j.surge.2011.11.002.
20. Lopez-Vilchez I., Diaz-Ricart M., White J.G. et al. Serotonin enhances platelet procoagulant properties and their activation induced during platelet tissue factor uptake. *Cardiovasc Res.*, 2009, vol. 84(2), pp. 309–316. DOI: 10.1093/cvr/cvp205.
21. Mercado C.P., Kilic F. Molecular mechanisms of SERT in platelets: regulation of plasma serotonin levels. *Mol Interv.*, 2010, vol. 10(4), pp. 231–241.
22. Ruddell R.G., Oakley F., Hussain Z. et al. A role for serotonin (5-HT) in hepatic stellate cell function and liver fibrosis. *Am J Pathol.*, 2006, vol. 169(3), pp. 861–876. DOI: 10.2353/ajpath.2006.050767.
23. Wang H., Steeds J., Motomura Y. et al. CD4+ T cell-mediated immunological control of enterochromaffin cell hyperplasia and 5-hydroxytryptamine production in enteric infection. *Gut.*, 2007, vol. 56(7), pp. 949–957.
24. Wen Y., Emontzpoehl C., Xu L. et al. Interleukin-33 facilitates liver regeneration through serotonin-involved gut-liver axis. *Hepatology.*, 2023, vol. 77(5), pp. 1580–1592. DOI: 10.1002/hep.32744.
25. Yabut J.M., Crane J.D., Green A.E. et al. Emerging Roles for Serotonin in Regulating Metabolism: New Implications for an Ancient Molecule. *Endocrine reviews.*, 2019, vol. 40(4), pp. 1092–1107. DOI: 10.1210/er.2018-00283.
26. Yonezawa Y., Kondo H., Nomaguchi T.A. Age-related changes in serotonin content and its release reaction of rat platelets. *Mech Ageing Dev.*, 1989, vol. 47(1), pp. 65–75. DOI: 10.1016/0047-6374(89)90008-0.
27. Yoshizumi T., Itoh S., Imai D. et al. Impact of platelets and serotonin on liver regeneration after living donor hepatectomy. *Transplant Proc.*, 2015, vol. 47(3), pp. 683–685. DOI: 10.1016/j.transproceed.2014.11.050.

EVGENIIA A. GRIGOREVA – Post-Graduate Student, Department of Medical Biology with a course of Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (shgrev@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3626-2750>).

VALENTINA S. GORDOVA – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Fundamental Medicine of the Medical Institute, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia, Kaliningrad (crataegi@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5109-9862>).

VALENTINA E. SERGEEVA – Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Medical Biology with a course of Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (kaf-biology@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3471-5226>).

ALINA T. SMORODCHENKO – Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Anatomy, Medical School Berlin – University of Health and Medicine, Germany, Berlin (alinasmor@yahoo.de; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1415-1531>).

Формат цитирования: Григорьева Е.А., Гордова В.С., Сергеева В.Е., Смородченко А.Т. Возможные причины изменения содержания серотонина в печени крыс в условиях хронического поступления кремния с питьевой водой [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. – 2023. – № 4. – С. 69–80. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2023/4/7>. DOI: 10.47026/2413-4864-2023-4-69-80.