

УДК 612.367:577.175.732

Н.С. Скочко, М.Ф. Черняк, Т.В. Берегова, Д.С. Яковський
Київський національний університет ім. Т. Шевченка, м. Київ

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ТРАНСПОРТУ ВОДИ ТА ЕЛЕКТРОЛІТІВ ЧЕРЕЗ ЕПІТЕЛІЙ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ МУЛЬТИПРОБІОТИКОМ

Досліджено транспорт води і електролітів через епітелій товстої кишки у щурів різного віку. Встановлено, що у віці 21-го та 24-х місяців всмоктування води та іонів Na^+ і Cl^- значуще збільшується, що є однією з причин виникнення закрєпів у щурів літнього і старечого віку. Періодичне додавання до стандартного корму мультипробіотика «Симбітер[®] ацидофільний» концентрований (0,14 мл/кг) запобігає віковим змінам у транспорті води і електролітів через епітелій товстої кишки.

Ключові слова: товстий кишечник, сумарний потік води та іонів Na^+ і Cl^- , мультипробіотик.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи Навчально-наукового центру “Інститут біології” Київського національного університету імені Тараса Шевченка “Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій” (№ державної реєстрації 0104U009878).

Закрепи зустрічаються у 60% людей старших 60 років. Вони не тільки знижують соціальну активність людей, але і викликають підвищення тиску в порожнині кишечника, дивертикули, дисбактеріоз та накопичення ендотоксинів [2]. В основі закрєпів у здорових людей віком 80 років лежить уповільнення транспорту хімісу в товстій кишці (ТК), що є наслідком зменшення моторної активності ТК [9]. Старіння ТК асоціюють з дегенерацією нервових волокон, які іннервують його гладеньку мускулатуру [13]. Автори вважають, що це призводить до закрєпів, так як при цьому зменшується виділення нейромедіатора ацетилхоліну – головного стимулятора моторної активності гладеньких м’язів. Роберт та співавтори [10] встановили існування іншого механізму зменшення виділення ацетилхоліну в ТК при старінні. Вони довели, що старіння супроводжується зменшенням надходження кальцію в мієнтеральні нейрони ТК у щурів, в результаті чого зменшується виділення ацетилхоліну. Айзман Р.І. показав, що при старінні розвиваються зміни в слизовій оболонці кишки, які можуть призводити до зниження гідролізу і всмоктування, так як, по-перше, через процеси атрофії зменшується поверхня на якій реалізується мембраннетравлення, по-друге, відбуваються зміни на рівні транспортних систем за рахунок зменшення числа функціонуючих переносників. Зниження секреції Cl^- в літніх осіб підвищує частоту закрєпів [1]. Таким чином, в більшості доступної нам літератури розвиток закрєпів при старінні пов’язують із змінами в моториці ТК і значно менше уваги приділяють вивченню вікових аспектів транспорту води і електролітів через епітелій ТК.

Раніше нами було показано, що в процесі старіння з віком збільшується всмоктування води, Na^+ та Cl^- , що очевидно лежить в основі вікових закрєпів [5]. Ці зміни починаються на кінець зрілого віку. Незважаючи на велику кількість послаблюючих препаратів, актуальним є пошук засобів профілактики та лікування закрєпів, які не призводять до виникнення залежності та побічних ефектів. На наш погляд, одними з перспективних профілактичних засобів можуть бути пробіотики, так як з віком збільшується контамінація ТК умовно-патогенною флорою [6].

Метою роботи було дослідити динаміку транспорту води і електролітів через епітелій ТК у щурів різного віку та вплив періодичного введення мультипробіотику.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведені в умовах хронічного експерименту на білих нелінійних щурах, самках, які були народжені різними самками в один день та рандомізовано поділені на 2 групи: контрольну, яку утримували на стандартному раціоні, та дослідну, якій до стандартного корму періодично додавали «Симбітер». Щурам контрольної групи у віці 3, 6, 9, 18, 21 та 24 місяців упродовж 30 днів перорально вводили 0,5 мл водопровідної дехлорованої води кімнатної температури. Щурам дослідної групи в перші 10 днів після народження щоденно в роту порожнину вводили 1 краплю мультипробіотику «Симбітер[®] ацидофільний» концентрований. В послідовному цим щурам у віці 3, 6, 9, 18, 21 та 24 місяців упродовж 30 днів перорально вводили мультипробіотик Симбітер (0,14 мл/кг) (НВК «О.Д. Пролісок»), розчиненого у 0,5 мл води. В склад однієї дози мультипробіотику (10 мл) входить концентрована біомаса живих клітин симбіозу 14 штамів пробіотичних бактерій, КУО/см³, не менше: лактобацили і лактококи – $6,0 \times 10^{10}$, пропіоновокислі бактерії – $3,0 \times 10^{10}$, біфідобактерії – $1,0 \times 10^{10}$, оцтовокислі бактерії – $1,0 \times 10^6$.

У віці 3 (ювенільний вік), 6, 9 (юнацький вік), 18 (зрілий вік) 21 місяць (літній вік) та 24 (старечий вік) з кожної групи відбирали по 6-8 тварин для проведення експериментальних процедур.

Дослідження транспорту води та електролітів у товстій кишці проводили методом перфузії ізольованої ділянки кишки в умовах досліду *insitu* [12]. Після 60-хвилинної перфузії (еквілібраційний період), відтікаючий (аспірований) розчин збирали впродовж 180 хвилин, через кожні 20 хвилин. Рівень абсорбції води визначали за зміною концентрації невсмоктуваного маркера фенолового червоного, яка визначалась фотокolorиметрично при трьох довжинах хвиль $\lambda=520$ нм, $\lambda=560$ нм та $\lambda=600$ нм, концентрацію іонів Cl^- у перфузаті вимірювали на іономірі з використанням іон-селективного хлорного електроду. Вимірювання концентрації іонів Na^+ та K^+ проводили за допомогою полум’яно-фотометричного аналізатора рідин.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету математичних програм StatisticSoft 6.0. У зв’язку з невеликим об’ємом вибірок, для перевірки розподілу на нормальність було застосовано W тест

Шапіро-Вілка. Ймовірність похибки першого роду $\alpha > 0,05$. Порівняння даних проводилося за допомогою для U-критерію Манна-Уїтні незалежних вибірок. Розраховували медіану (Me) і нижній та верхній кватилі (Me [н.кв...в.кв]) [3].

Результати дослідження та їх обговорення. В результаті проведених досліджень встановлено, що у щурів 3-х місячного віку рівень всмоктування води становив 31,01[5,05...68,93] мкл/г*20хв, Na^+ - 24,81[2,86...46,85], K^+ - -0,74 [-3,01-0,05] та Cl^- - 13,92 [4,46...26,99]мкмоль/г*20хв, що узгоджується з даними, отриманими іншими дослідниками в умовах дослідів *in vivo*, результати експериментів яких показали, що всмоктування води супроводжується абсорбцією іонів Na^+ та Cl^- і секрецією K^+ [1,8,10] (рис.1).

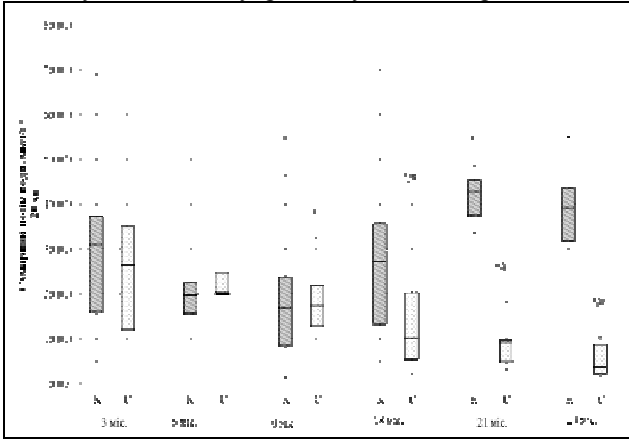


Рис. 1. Сумарний потік води через епітелій ТК у щурів різних вікових груп (Me [н.к...в.к], n=8) К – щури контрольної групи; С – щури дослідної групи, яким періодично вводили мультипробіотик «Симбітер». Примітка тут і далі: * - $p < 0,05$ порівняно зі щурами контрольної групи 3 місячного віку; # - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів відповідного віку.

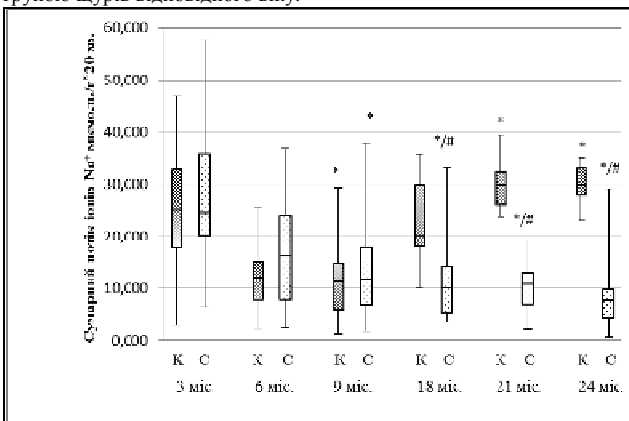


Рис.2. Сумарний потік іонів Na^+ через епітелій ТК у щурів різних вікових груп (Me [н.к...в.к], n=8) К – щури контрольної групи; С – щури дослідної групи, яким періодично вводили мультипробіотик «Симбітер».

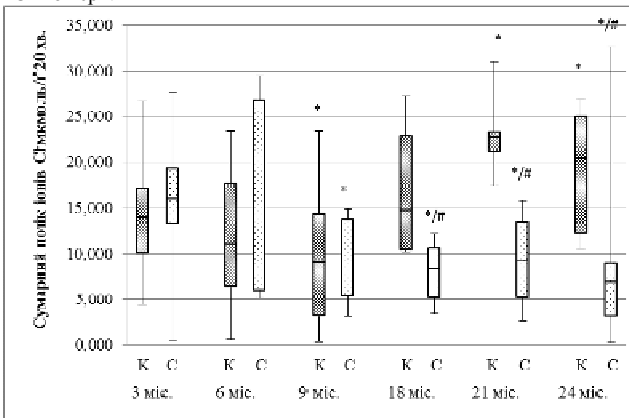


Рис. 3. Сумарний потік іонів Cl^- через епітелій ТК у щурів різних вікових груп (Me [н.к...в.к], n=8) К – щури контрольної групи; С – щури дослідної групи, яким періодично вводили мультипробіотик «Симбітер».

У щурів контрольної групи 6 та 18 місячного віку рівень всмоктування води достовірно не відрізнялось від щурів ювенільного віку і становив 19,82 [3,5...50,57] та 27,16 [12,72...35,95] мкл/г*20хв відповідно. У щурів літнього (21 місяць) та старечого віку (24 місяці) рівень всмоктування води збільшувався порівняно зі щурами 3-х місячного віку відповідно на 33,7% ($p < 0,05$) та 26,0% ($p < 0,05$). Періодичне введення мультипробіотику до раціону щурів призвело до зниження рівня абсорбції води у ТК у щурів 18, 21 та 24 місячного віку на 63,0% ($p < 0,05$), 79,1% ($p < 0,05$) та 90,8% ($p < 0,05$) порівняно зі тваринами аналогічного віку контрольної групи.

У щурів 6-ти місячного віку сумарний потік іонів Na^+ був меншим, ніж у щурів 3-ох місячного віку, але достовірних відмінностей не було виявлено (рис.2). У щурів дев'ятимісячного віку абсорбція Na^+ зменшилась на 57,7% ($p < 0,05$) порівняно з щурами ювенільного віку. Таким чином, сумарний потік електrolітів у щурів дев'ятимісячного віку був найменшим. У дослідній групі тварин, як і у контрольній, у тварин 9-ти місячного віку сумарний потік іонів був нижчий порівняно з контрольною групою щурів 3-х місячного віку, становив 11,91 [1,72...37,86] мкмоль/г*20хв, що відповідно на 51,99% ($p < 0,05$) менше. Проте, у щурів літнього (21 місяць) та старечого (24 місяці) віку сумарний потік Na^+ збільшився на 19,7% ($p < 0,05$) та 20,5% ($p < 0,05$) порівняно з 3-ох місячними щурами контрольної групи. Отже, показник сумарних потоків Na^+ , як і води, були найбільшими у двадцяти чотирьох місячних щурів й становило 29,90 [23,04...32,25] мкмоль/г*20хв. Сумарний потік іонів у щурів зрілого, літнього та старечого віку дослідної групи був меншим порівняно зі щурами аналогічних вікових груп контрольної групи на 50% ($p < 0,05$), 64,07% ($p < 0,05$) та 74,05% ($p < 0,05$) відповідно і був меншим ніж у 3-х місячних щурів контрольної групи.

У щурів 6 та 18-ти місячного віку сумарний потік іонів Cl^- не відрізнявся у порівнянні від такого у щурів 3-х місячного віку. Найменшою абсорбція іонів Cl^- була у щурів 9-ти місячного віку і становила 9,03 [0,37...23,43] мкмоль/г*20хв. Достовірно зростання сумарного потоку іонів спостерігали у щурів літнього та старечого віку. Так показник у щурів 21-го місячного віку дорівнював 22,73 [17,49...30,93], 24-х – 20, 38 [10,61...26,92] мкмоль/г*20хв, що є відповідно на 63,3% ($p < 0,05$) та 46,4% ($p < 0,05$) більшим порівняно з щурами 3-х місячного віку.

Як і у випадку з рівнем сумарного потоку води і іонів Na^+ періодичне введення протягом життя мультипробіотику «Симбітер» зменшило сумарний потік іонів Cl^- через епітелій ТК (рис. 3).

Цікавим є те, що сумарні потоки електролітів Na^+ і Cl^- закономірно супроводжуються із змінами сумарного потоку води через епітелій ТК в досліджуваних груп щурів різного віку. Проте сумарний потік іонів K^+ не змінювався у щурів як контрольної та і дослідної групи у процесі старіння. З даних досліджень видно, що в стані спокою переважним типом транспорту води через епітелій товстої кишки є трансцелюлярний, який відбувається пасивно шляхом дифузії за осмотичним градієнтом концентрацій NaCl між внутрішньо- та міжклітинним середовищами епітеліоцитів, що вкривають кишку зсередини, що і підтверджуються в наших експериментах, де вода тісно пов'язана з Na^+ і Cl^- .

Висновки

1. У щурів літнього та старечого віку відбувається збільшення абсорбції води, іонів Na^+ і Cl^- .
2. Транспорт іонів K^+ через епітелій ТК у щурів в процесі онтогенезу не змінюється.
3. Періодичне введення щурам різних вікових груп мультипробіотику «Симбітер® ацидофільний» концентрований запобігає зменшенню сумарного потоку води та іонів Na^+ і Cl^- через епітелій ТК у щурів літнього та старечого віку.
4. Мультипробіотик «Симбітер® ацидофільний» концентрований можна розглядати як ефективний засіб профілактики розвитку закрепів.

Перспективи подальших досліджень. Перспективи подальших досліджень полягають у дослідженні морфологічних змін у стінці товстої кишки.

Література

1. Айзман Р.И. Возрастные особенности транспорта калия в дистальном отделе толстого кишечника крыс/ Р.И. Айзман, Е.Н. Боровец, А.Д. Герасев // - Российский физиологический журнал. – 2000. – № 86. – С. 86-94.
2. Белоусова Е.А. Лечение запора у пожилых пациентов / Е.А. Белоусова // Клиническая геронтология. – 2008. – №1. – С. 58–65.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц / – М.: Практика, - 1998. – 459 с.
4. Приходько В.Ю. Проблема хронічних закрепів у терапевтичній і гериатричній практиці / В.Ю. Приходько, О.В. Давидович, Н.Я. Давидович // Ліки України. – 2008. – № 5. – С. 43-46.
5. Черпак М.Ф. Вікові особливості транспорту води і електролітів через епітелій товстої кишки / М.Ф. Черпак, Т.В. Берегова // – Київ, 2012. – С. 326-327.
6. Enck P. The effects of ageing on the colonic bacterial microflora in adults / P. Enck, K. Zimmermann, K. Rusch[et al.] // Z Gastroenterol. – 2009. – Vol. 47, № 7. – P. 653-658
7. Greger R. Regulation of ion transport in colonic crypts / R. Greger, M. Bleich, J. Leipziger [et al.] // News Physiol Sci. – 1997. – Vol.12. – P.62-66.
8. Huang Z.C. Diagnosis and treatment of slow transit constipation complicated with adult megacolon / Z.C. Huang, Q. Liu, S.G. Li // Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi. – 2011. – Vol. 14, №12. – P. 41-44.
9. Madsen J.L. Effect of aging on gastro intestinal motor function / J.L. Madsen, J. Graff // Age, Ageing. – 2004. – Vol. 33. – P. 154-159.
10. Roberts D. Evidence for age-associated reduction in acetylcholine release and smooth muscle claudin junctions in the rat colon / D. Roberts, D. Gelperin, J.W. Wilwey // Am J Physiol. – 1994. – Vol. 267. – P. 515-522.
11. Sladen G.E. Studies on the effects of unconjugated dihydroxy bile salts on rat small intestinal function in vivo / G.E. Sladen, J.T. Harries // Biochem Biophys Acta. – 1972. – Vol. 288. – P. 443-456.
12. Spring K.R. Routes and mechanism of fluid transport by epithelia / K.R. Spring // Annu Rev Physiol. – 1998. – Vol.60. – P.105-119.
13. Voutilainen S. The gastrointestinal tract: safety pharmacology aspects relating to ageing, diet and natural/herbal remedies / S. Voutilainen // Journal of Pre-Clinical Research. – 2009. – Vol. 3, № 2. – P. 076-083.
14. Winter D.C. Rapid effect of sodium hydroxide on sodium-hydrogen exchange in isolated colonic crypts / D.C. Winter, M.F. Schneider, G.C. O'Sullivan // J Membr Biol. – 1999. – Vol.170. – P.17-26.

Реферати

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТРАНСПОРТА ВОДЫ И ЭЛЕКТРОЛИТОВ ЧЕРЕЗ ЭПИТЕЛИЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС И ИХ КОРРЕКЦИЯ МУЛЬТИПРОБИОТИКОМ

Скочко Н.С., Черпак М.Ф., Берегова Т.В., Янковський Д.С.

Исследованы транспорт воды и электролитов через эпителий толстой кишки у крыс разного возраста. Установлено, что в возрасте 21-го и 24-х месяцев всасывание воды и ионов Na^+ и Cl^- значительно увеличивается, что является одной из причин возникновения запоров у крыс пожилого и старческого возраста. Периодическое добавление к стандартному корму мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» концентрированный (0,14 мл/кг) предотвращает возрастные изменения в транспорте воды и электролитов через эпителий толстой кишки.

Ключевые слова: толстый кишечник, суммарный поток воды и ионов Na^+ и Cl^- , мультипробіотик.

Стаття надійшла 01.11.2013 р.

AGE-RELATED PECULIARITIES OF WATER AND ELECTROLYTES TRANSPORT ACROSS THE EPITHELIUM OF THE COLON OF RATS AND THEIR CORRECTION WITH MULTIPROBIOTIC

Skochko N.S., Cherpak M.F., Bereгова T.V., Yankovskiy D.S.

In the same time in 21 and 24 month old rats absorption of water and Na^+ and Cl^- ions was increased, which is one of the causes of constipation occurrence in elderly and senile rats. Periodic administration of multiprobiotic “Symbiter” (0.14 mg/kg) have prevented age-related changes in the transport of water and electrolytes across the epithelium of the colon. In elderly and senile rats absorption of water and Na^+ and Cl^- ions increased in comparison with juvenile rats; absorption of K^+ didn't changed in the process of aging; periodic administration of Symbiter prevented changes in total flow of water, Na^+ and Cl^- ions.

Key words: colon, the total flow of water and Na^+ and Cl^- ions, multiprobiotic.

Рецензент Непорада К.С.