

РЕЦЕПЦИЯ НУТРИЕНТОВ В КИШЕЧНИКЕ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО УПОТРЕБЛЕНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА

Руткевич С.А., Люзина К.М.

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь,
rutkevitch@inbox.ru*

Введение. В научной литературе накапливается все больше фактов, указывающих на тесную взаимосвязь физиологии симбионтных микроорганизмов кишечника и поддержание гомеостаза организма хозяина [4, 5, 10]. Микроорганизмы пищеварительного канала обеспечивают поддержание оптимального рН в просвете кишки, выделяют биологически активные вещества (аминокислоты, короткоцепочечные жирные кислоты, гистамин, серотонин, пиперидин, глутатион, витамины группы В, К, Е, гормоны и гормоноподобные вещества, иммуноглобулин А, мурамидазу, антибиотикоподобные субстанции) [7, 10]. Перечисленные вещества вызывают как местные, так и системные эффекты, в связи с чем, организм хозяина и населяющие его микроорганизмы рассматривают как саморегулирующуюся экосистему [5, 10]. Изменение количественного и качественного состава микроорганизмов в связи с продолжительным приемом антибактериальных препаратов, прежде всего, связывают с нарушением моторно-эвакуаторной функции пищеварительного тракта, в то время как влиянию антибиотик-ассоциированного дисбактериоза на процессы рецепции ключевых пищевых веществ в тонком кишечнике в литературе уделяется меньше внимания.

Цель исследований состояла в оценке чувствительности афферентных систем кишки, воспринимающих пищевые стимулы, после длительного употребления линкомицина крысами.

Материалы и методы исследования. Эксперименты были выполнены на 32 половозрелых белых лабораторных крысах массой тела 248 ± 15 г, которые содержались в стандартных условиях вивария. Животные были разделены на две группы. Крысы контрольной группы ($n=16$) получали сухой корм и воду (свободный доступ). В опытной группе животные ($n=16$) получали тот же корм, что и в контроле, но в воду (свободный доступ) в течение 14 дней добавляли линкомицин. Способ введения антибиотика лабораторным животным и доза заимствованы из литературы [1]. В опытах, проводимых нами ранее, было установлено, что животные, получавшие только сухой корм, потребляли в сутки 29 ± 2 мл воды [2]. Исходя из питьевого режима и рекомендованной в описании препарата максимальной дозы линкомицина (60 мг/кг) животным из опытной группы в воду добавляли антибиотик в количестве 500 мг/л. В экспериментах той же серии опытов

было установлено, что крысы, получавшие с водой линкомицин, потребляли достоверно больше жидкости, чем в контроле. Объем жидкости, потребляемой крысами опытной группы в данной серии опытов, составил 37 ± 2 мл [2]. Доза антибиотика, таким образом, на каждую крысу составила в среднем $18,5 \pm 1$ мг, что в пересчете на килограмм массы тела животных соответствовало в среднем 74 ± 4 мг. После окончания приема антибиотика выполнялись острые опыты, которые проводились под уретановым наркозом ($1,5$ г/кг внутривенно). Для регистрации афферентной импульсной активности (АИ) брыжеечного нерва наркотизированным крысам выполняли лапаротомию, нерв препарировали, перерезали, дистальный фрагмент брали на лигатуру и помещали на подвесные биполярные хлорсеребряные электроды с межэлектродным расстоянием 3 мм. Нейрограммы записывали на протяжении 60 минут до введения пищевых веществ и в течение 60 мин после введения в двенадцатиперстную кишку 0,3 мл воды, 0,3 мл 40% водного раствора глюкозы ($n=16$), 0,3 мл рафинированного и дезодорированного подсолнечного масла ($n=16$). Вводимые вещества перед инъекцией подогревали до температуры $37-37,5$ °С. На протяжении всего опыта поддерживали оптимальную температуру тела животного. Анализировали частоту (имп/с) импульсной активности в афферентных волокнах нерва, а также среднюю амплитуду (мкВ). Для записи и анализа нейрограмм использовали канал для полиграфической регистрации аппаратно-программного комплекса «Нейрон-Спектр-4» («Нейрософт» Россия). Статистический анализ данных выполнен с использованием *t*-критерия Стьюдента для малых выборок и однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считались достоверными при $P \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Влияние ключевых пищевых веществ на афферентную активность висцеральных проводников, иннервирующих рецепторные аппараты в органах пищеварительного тракта, описаны в отечественной и зарубежной литературе [3, 6, 8, 9]. Анализ спонтанной активности афферентных волокон брыжеечного нерва позволил установить достоверные различия интенсивности и частоты разрядов чувствительных нервных проводников у крыс контрольной и опытной групп. Частота импульсации в контрольной группе составляла 25 ± 7 имп/с, а средняя амплитуда – 22 ± 5 мкВ ($n=16$). У животных, принимавших линкомицин, частота и амплитуда была значительно ниже (в 2,5-3 раза), чем в контроле. Частота АИ была в диапазоне 9 ± 2 имп/с ($P < 0,01$), амплитуда – 10 ± 4 мкВ ($P < 0,05$; $n=16$).

Полученные результаты доказывают, что после длительного употребления линкомицина происходит снижение функциональной активности рецепторного аппарата кишечника.

Для выяснения модальности рецепторов, функциональная активность которых нарушалась в условиях приема линкомицина, крысам контрольной

и опытной групп вводили воду (контроль) и пищевые вещества (глюкозу, растительное масло) в полость двенадцатиперстной кишки. Установлено, что внутрипросветное введение воды не приводило к значимым флуктуациям электрогенеза в афферентных волокнах брыжеечного нерва. Введение 0,3 мл 40% раствора глюкозы в контрольной и опытной группах приводило к росту амплитуды и частоты АИ брыжеечного нерва, свидетельствующее о сохранении чувствительности рецепторного аппарата к действию этого пищевого стимула. В контрольной группе частота и амплитуда АИ к 30-й минуте почти в 2 раза превышала фоновое значение, достигая 45 ± 9 имп/с ($P < 0,05$) и 51 ± 7 мкВ ($n=8$; $P < 0,05$) соответственно. Введение глюкозы крысам опытной группы сопровождалось менее значительным приростом частоты и амплитуды АИ в нерве. Спустя 30 минут после введения моносахарида электрофизиологические показатели составляли 18 ± 8 имп/с и 21 ± 5 мкВ ($n=8$; $P < 0,05$), достоверно отличаясь от фона и реакции в контроле. Результаты этой серии опытов указывают на снижение чувствительности кишечных хеморецепторов к глюкозе.

В следующей серии опытов исследовали формирование афферентной активности в брыжеечном нерве у животных после интрадуоденального введения растительного масла. В проведенных экспериментах начальные изменения АИ появлялись к 30-й минуте после введения масла, а максимум реакции отмечался через 50-60 минут после инъекции. Частота афферентной импульсной активности в волокнах брыжеечного нерва через 60 минут после введения подсолнечного масла составляла 36 ± 5 имп/с против частоты исходного уровня 22 ± 4 имп/с ($n=8$; $P < 0,05$). Амплитуда импульсов спустя это же время увеличивалась от 24 ± 4 мкВ в фоне до 51 ± 6 мкВ ($P < 0,05$).

Направленность и динамика изменений АИ в брыжеечном нерве после инъекции масла в двенадцатиперстную кишку у крыс опытной группы были аналогичны эффектам в контроле, но интенсивность реакции была меньше. Частота осцилляций в опытной группе увеличивалась от 9 ± 3 имп/с в фоне до 28 ± 4 имп/с к 60-й минуте после введения подсолнечного масла, значимо отличаясь от реакция в контрольной группе животных ($n=8$; $P < 0,05$). Амплитуда АИ в нерве возрастала от 13 ± 2 мкВ в фоне до 29 ± 2 мкВ через час после применения масла, что было достоверно ниже по сравнению с откликом на внутрипросветное введение масла в контроле ($P < 0,05$).

Результаты, полученные в данной серии опытов, указывают на снижение чувствительности афферентных волокон кишки к жирам или продуктам их гидролиза в условиях продолжительного приема линкомицина.

Заключение. Таким образом, результаты экспериментов позволяют сделать вывод о том, что на фоне дисбактериоза, обусловленного длительным употреблением линкомицина, развивается снижение чувствительности афферентных волокон тонкой кишки к пищевым раздражителям. Нарушение рецепции пищевых сигналов не исключает

ноцицептивный характер изменений в функционировании органов пищеварения в условиях развития дисбактериоза при длительном приеме антибактериальных препаратов.

Литература

1. Левицкий, А.П. Дисбиотические и провоспалительные эффекты сахарной нагрузки (экспериментальное исследование) / Левицкий А.П., Цисельский Ю.В., Ходаков И.В // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2009. – №5. – С. 137–141.
2. Хруш А.Х., Руткевич С.А. Особенности электрической активности восходящей ободочной кишки, брюшного аортального и блуждающего нервов крыс в условиях длительного приема линкомицина //Труды БГУ. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2013. – Т.8, ч.1 – С.75-78.
3. Чумак, А.Г. Сенсорная рецепция нутриентов в тонком кишечнике после транзиторной гипоксии и длительного приема антибиотиков / А.Г.Чумак, И.Ю. Альфер, Х.А. Хруш, К.М. Люзина, С.А. Руткевич //Актуальные проблемы медицины: сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 26-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета (Гомель, 3–4 ноября 2016 года) / А. Н. Лызиков [и др.]. — Гомель: ГомГМУ, 2017. — С. 845-848.
4. Backhed, F. Ding H., Wang T. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage / F. Backhed, H. Ding, T. Wang et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences . – 2004. – Vol. 101, No. 44. – P. 15718–15723.
5. Das, U. N. Obesity: genes, brain, gut, and environment / U. N. Das // Nutrition. – 2010. – Vol. 26, No. 5. – P. 459–473.
6. David, E. Cummings and Joost Overduin Gastrointestinal regulation of food intake / E. David // Journal of Clinical Investigation.– 2007 – Vol 1. – P. 13–23.
7. Marchesi, J. The normal intestinal microbiota / J. Marchesi, F. Shanahan // Current Opinion in Infectious Diseases. – 2007. – Vol. 20, No. 5. – P. 508–513.
8. Page, A. J. Vagal mechanoreceptors and chemoreceptors in mouse stomach and esophagus / A. J. Page, C. M. Martin, L. A. Blackshaw // J Neurophysiology. – 2002. – Vol. 87. – P. 2095–2103.
9. Travagli, R. A. Receptors and transmission in the brain–gut axis: potential for novel therapies. Fast and slow extrinsic modulation of dorsal vagal complex circuits / R. A. Travagli, R. C. Rogers // American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2001. – Vol. 281, No. 3. – P. 595–601.
10. Wouters, T. Does Our Food (Environment) Change Our Gut Microbiome (“In–Vironment”): A Potential Role for Inflammatory Bowel Disease? / T. Wouters, J. Doré, P. Lepage // Digestive Disease –2012. – Vol.30, N 3. – P.33–39.