

ВПЛИВ ПРОБІОТИКА НА СТАН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ СТРАВОХОДУ ЗА УМОВ СТРЕСУ

ВПЛИВ ПРОБІОТИКА НА СТАН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ СТРАВОХОДУ ЗА УМОВ СТРЕСУ – В експериментах на щурах визначено вплив водно-імобілізаційного стресу та дію пробіотика на морфологічний стан слизової оболонки стравоходу гістологічно та при застосуванні візуально-аналогової шкали. Показано, що процеси регенерації у слизовій оболонці стравоходу (СОС) різко зростають через дві доби після дії стресу. Застосування пробіотика сприяло інтенсифікації нейродистрофічних пошкоджень СОС, викликаних стресом.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКОВ НА СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПИЩЕВОДА В УСЛОВИЯХ СТРЕССА – В экспериментах на крысах установлено влияние водно-иммобилизационного стресса и действие пробиотика на морфологическое состояние слизистой оболочки пищевода гистологически и при применении визуально-аналоговой шкалы. Показано, что процессы регенерации в слизистой оболочке пищевода (СОП) резко возрастают через двое суток после воздействия стресса. Применение пробиотика способствовало интенсификации нейродистрофических повреждений СОП, вызванных стрессом.

INFLUENCE OF PROBIOTIC ON THE ESOPHAGEAL MUCOSA TISSUE DURING STRESS – In experiments on rats we discovered the influence of probiotic during the water immobilizing immersion stress on the morphological state of the esophageus mucosa tissue by the histology score analysis. It was established that the processes of regeneration in esophageal mucosa tissue sharply grow in two days after the action of stress. Application of probiotic was instrumental in intensification of the neyrodistofik damages of an esophageal tissue which was caused by stress.

Ключові слова: стрес, стравохід, пробіотик.

Ключевые слова: стресс, пищевод, пробиотик.

Key words: stress, esophageus, probiotic.

ВСТУП Стрес є одним із факторів розвитку гастроезофагальної рефлюксної хвороби, змінює моторику стравоходу, функціонування нижнього сфінктера стравоходу (НСС) та проникність епітеліального шару [1].

Важливу роль у забезпеченні цілості епітеліального бар'єра органів травлення відіграє резидентна мікрофлора. У травній системі нормальна мікрофлора виконує різноматні функції, а саме: метаболічну, трофічну, дезінтоксикаційну, синтезувальну, енергетичну, стимулює моторно-евакуаторну діяльність, утворення місцевого і системного імунітету, секреторних імуноглобулінів А, бере участь у регенерації та диференціюванні тканин, у процесах внутрішньопорожнинного травлення, виведенні ендо- й екзотоксинів, руйнуванні мутагенів, сприяє іонному гомеостазу, нормалізує газоутворення, забезпечує цитопротекцію, а також потенційно може брати участь в активуванні чи гальмуванні дій лікарських речовин тощо [2, 3]. Порушення функціонування НСС призводить до потрапляння мікрофлори шлунка у стравохід і сприяє надмірному її розмноженню, що спричиняє порушення цілості слизової оболонки стравоходу (СОС).

Метою дослідження стало визначення впливу пробіотика "Симбітер" на тлі стресу на морфологічний стан СОС щурів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експерименти виконували на 67 білих нелінійних щурах-самцях масою 180–220 г, яких утримували в умовах віварію ЛНМУ імені Данила Галицького, відповідно до положень та дозволу університетського комітету з біоетики (№ 5 від 25.05.09) та міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовують для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Тварин з експерименту виводили, застосовуючи етаназію під загальним знеболюванням (50 мг/кг пентобарбіталу внутрішньоочеревинно). Для індукції уражень СОС використовували стандартну модель 3-годинного водно-імобілізаційного стресу (ВІС) за [4]. Для визначення ролі мікробіома в динаміці гоєння нетопічних стресіндукованих уражень СОС використовували пробіотик "Симбітер" ("Симбітер ацидофільний концентрований", в-во науково-виробничої компанії "О. Д. Пролісок", Україна), що складається зі стабільних 14 штамів найбільш фізіологічних для людини бактерій родів Bifidobacterium, Lactobacillus, Lactococcus і Propionibacterium.

Дослідних тварин поділили на 4 групи: перша група – контроль (інтактні); друга група – тварини, які під впливом ВІС; третя група – тварини, які підлягали дослідженню через добу після стресу, четверта група – тварини, яких досліджували через 2 доби після дії стресу. Тваринам другої – четвертої груп вводили перорально за 1 годину до ВІС водний розчин об'ємом 1,0 мл, що містив пробіотик (0,5 мл з розрахунку 140 мг/кг нерозведеного препарату) та 0,5 мл фізіологічного розчину. Тваринам третьої і четвертої груп вводили перорально "Симбітер" двічі на добу після індукції стресу. Експериментальні групи тварин включали 6–8 особин кожна і формувались за вихідною масою тіла. У всіх експериментах формували групи контрольних тварин (інтактні щури) й у якості плацебо використовували фізіологічний розчин.

Для дослідження функціональної реорганізації епітеліального бар'єра проводили мікроскопічне дослідження зрізів нижньої третини стравоходу за допомогою мікроскопа МВІ-15-2, (ЛОМО, Росія) та системи відеоспостереження AVerMedia Technologies, Inc., США.

Для оцінки ступеня вираження змін СОС були розроблені критерії і відповідні напівкількісні бальні шкали: пошкодження – розволокнення рогового шару (1 бал), вогнищева базофілія мас кератину (2 бали), десквамація рогових мас, вакуолізація клітин базального шару, везикулярні ядра (3 бали). Для оцінки запалення – дифузний набряк підслизової (1 бал), виражений нерівномірний набряк підслизової та незначна інфільтрація (2 бали), виражений набряк та десквамація підслизової, переваскулярні або суб-епітеліальні інфільтрати (3 бали).

Отримані результати опрацьовані статистично з використанням критерію Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ За умов ВІС відзначено такі морфологічні зміни

СОС: локальне витончення та десквамація поверхневого шару. Просвіт судин власної пластинки та підслизової основи був подекуди звужений, місцями простежувався набряк сполучної тканини, що створював враження звуження просвіту стравоходу та заповнення його десквамованими елементами поверхневого шару слизової оболонки стравоходу.

Згідно з візуально-аналоговою шкалою за умов ВІС у СОС процеси альтерації становили 2,7 бала, лейкоцитарна інфільтрація – 2,8 бала, порушення мікроциркуляції – 3 бали. Через 24 год після дії стресу процеси альтерації зменшились на 15 %, лейкоцитарна інфільтрація знизилась на 16 %, порушення мікроциркуляції – на 33 %, проте зріс рівень показника регенерації на 58 %.

Через 48 год відзначалось зниження процесів альтерації (на 44 %), порушення мікроциркуляції (на

40 %), зменшувався рівень лейкоцитарної інфільтрації (на 34 %), при цьому рівень регенерації зростав на 92 %, порівнюючи з показниками за умов ВІС. Отже, упродовж 48 год після стресу в СОС зменшувався рівень прозапальних показників та зростав показник регенерації (рис. 1).

При введенні пробіотика “Симбітер” на тлі дії ВІС знижувало цитоагресивні прояви стресіндукованих реакцій, що виявлялись зменшенням ступеня пошкодження та ознаками гоєння СОС, що можна пояснити трофічною, захисною (зміна експресії адгезивних молекул, модифікація складу преепітеліального шару тощо) та імуномодулювальною діями пробіотика (рис. 2).

Оцінюючи морфологічний стан СОС при дії пробіотика та тлі ВІС, можна констатувати, що більш виражені зміни спостерігались через 24 год після введен-

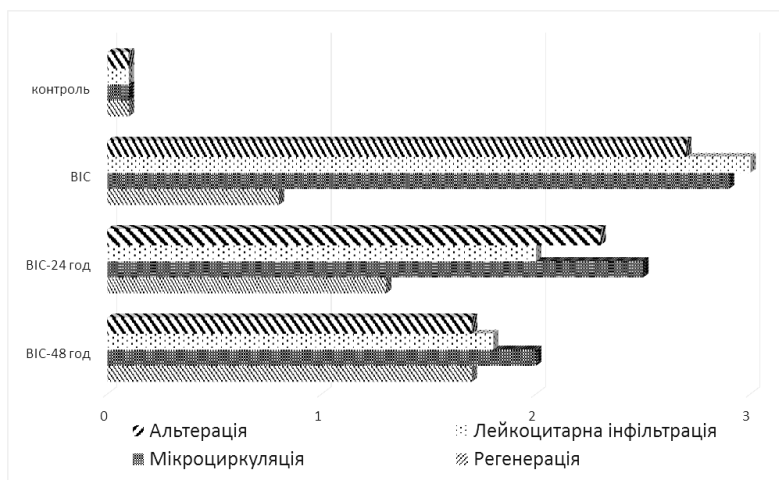


Рис. 1. Динаміка гістологічних ознак альтерації, змін лейкоцитарної інфільтрації, мікроциркуляції та регенерації СОС шурів за умов індукції водно-імобілізаційного стресу та через 24 і 48 год порівняно з групою контролю (подано за градацією чотирибальної системи ВАШ).

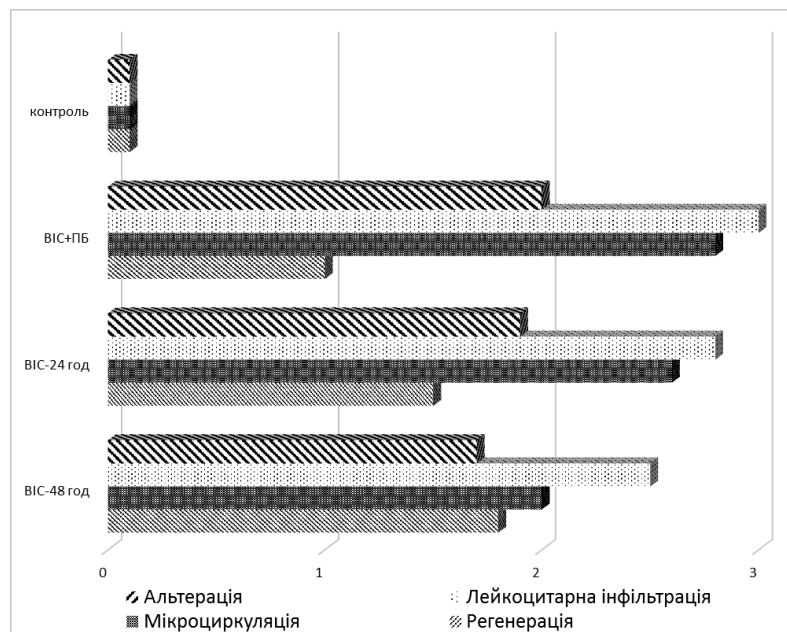


Рис. 2. Вплив модифікації пристінкової мікрофлори на динаміку гістологічних ознак альтерації, змін лейкоцитарної інфільтрації, мікроциркуляції та регенерації СОС шурів за умов індукції водно-імобілізаційного стресу та через 24 і 48 год відповідно до групи контролю (подано за градацією бальної системи ВАШ).

ня пробіотика. Так, процеси альтерації зменшились на 24 %, тоді як процеси регенерації зросли на 18 %, порівняно з відповідними показниками при дії ВІС.

Отримані результати свідчать, що тригодинний стрес викликає неерозивні зміни СОС, які за несприятливих умов можуть трансформуватись у ерозивно-виразкові пошкодження. Вказані зміни пов'язані з активацією симпато-адреналової системи та зростанням вмісту в крові адреналіну та кортизолу [5, 6]. Виникнення ішемії спричиняє порушення мікроциркуляції та зростання лейкоцитарної інфільтрації СОС. Окрім цього, стрес впливає на функціонування нижнього стравохідного сфінктера та моторику стравоходу, підвищує секрецію шлункових залоз і, таким чином, викликає зростання частоти закиду шлункового вмісту та тривалості його негативної дії на слизову оболонку дистального відділу стравоходу (P. Woodland, 2013). Морфологічні зміни СОС за умов ВІС, ймовірно, викликані зростанням оксидативних процесів, внаслідок підвищення синтезу і виділення адреналіну в кров та порушенням мікрогемодинаміки [8].

Мікрофлора, що міститься у пробіотику "Симбітер", поступаючи у травну систему, призводить до різностороннього впливу: знижує показники процесів ліпопероксидації, зменшує рівень експресії прозапальних генів, загальну активність NO-синтази, вміст нітрит-аніона, прозапальних цитокінів (ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- α), тобто проявляє виражену протизапальну дію [9, 10].

З результатів наших досліджень видно, що виражені морфологічні зміни СОС при дії пробіотика у вигляді зменшення альтерації та зростання процесів регенерації спостерігались через добу після одноразового введення симбітеру, що вказує на тривалість ефекту при введенні препарату.

У попередніх дослідженнях ми відмітили, що за умов ВІС у СОС відзначалась зміна рівня зв'язування ряду лектинів до відповідних глюкокон'югатів, а саме: знижувалась інтенсивність зв'язування N-ацетил-D-глюкозаміну, N-ацетил-нейрамінової кислоти та Neu 5Ac/2>6Gal у епітеліальній пластинці. Застосування пробіотиків викликало виражену сіалізацію апікальних мембран, міжклітинних контактів та клітинно-матриксних з'єднань СОС [11].

ВИСНОВКИ Індукція стресу ініціювала функціональну реорганізацію епітеліального бар'єра, що свідчать про морфологічні зміни слизового бар'єра, наявність набряку та реакції мікроциркуляторного русла. Динаміка змін СОС показала, що процеси регенерації у СОС різко зростають через дві доби після дії стресу. Застосування пробіотика сприяло інтенси-

фікації нейродистрофічних пошкоджень СОС, викликаних стресом.

Перспективи подальших досліджень У механізмі розвитку гастроєзофагального рефлюксу значну роль відіграє нижній сфінктер стравоходу. Визначення змін функціонування нижнього сфінктера стравоходу за умов невиразкових пошкоджень його слизової оболонки є подальшим кроком наших досліджень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Soderholm J. D. Stress-related changes in oesophageal permeability: filling the gaps of GORD? / J. D. Soderholm // Gut. – 2007. – Vol. 56. – P. 1177–1180.
2. Tarasenko L. M. Biochemical bases of damage and defence of organs of cavity of mouth in the conditions of stress / L. M. Tarasenko, K. S. Neporada, T. A. Petryshenko // Announcer of Stomatology – 1997. – № 4. – P. 525–527.
3. Borusenko M. I. An immunomodulation of local immunity of an upper digestive tract under the chronic inflammatory process of his mucous membrane / M. I. Borusenko // Modern Gastroenterology. – 2006. – № 1. – P. 41.
4. Takagi K. Y. Studies on drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcers in rats / K. Y. Takagi, Y. Kayuya, K. Watanabe // Chem. Pharm Bull. – 1964. – № 12. – P. 465–472.
5. Bhatia V. Stress and the gastrointestinal tract / V. Bhatia // Journal of Gastroenterology and Hepatology. – 2005. – № 20. – P. 332–339.
6. Interaction between selective cyclooxygenase inhibitors and capsaicin sensitive afferent sensory nerves in pathogenesis of stress-induced gastric lesions. Role of oxidative stress / S. Kwiecien., P. C. Konturek, Z. Sliwowski [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. – 2012. – Vol. 63, № 2. – P. 143–151.
7. The neurophysiology of the esophagus / P. Woodland, D. Sifrim, A. Krarup [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2013. – Vol. 1300. – P. 53–70.
8. Особливості впливу нестероїдних протизапальних препаратів на показники NO-синтазної системи у слизовій оболонці шлунка щурів за умов стресу / І. С. Фоменко, Т. І. Бондарчук, Л. П. Білецька [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2014. – Т. 60, № 2. – С. 51–56.
9. Стрес-репосивні системи підшлункової залози щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії та за введення мультіпробіотика "Симбітер" / К. О. Дворщенко, С. Є. Вакал, А. С. Драніцина [та ін.] // Український біохімічний журнал. – 2013. – Т. 85, № 2. – С. 68–77.
10. Expression of Reg 1a gene in rat duodenal upon long-term hypoacidity and with administration of multiprobiotic "Symbiter acidophilic" concentrated / A. Dranitsina, K. Dvorchshenko, U. Savko, L. Ostapchenko // Announcer Kyiv National University by Taras Shevchenko. – 2013. – Vol. 2, № 64. – P. 5–7.
11. Особливості складу вуглеводного компоненту глікопротеїнових рецепторів епітеліального бар'єра стравоходу за умов гоєння стрес-індукованих уражень / М. Я. Савицька, О. С. Заячківська, М. Р. Гжегоцький, А. М. Ященко // Практична медицина. – 2009. – Т. 15, № 2. – С. 69–80.

Отримано 26.11.2014