

## СТАН СИНАПТИЧНОГО ГАЛЬМУВАННЯ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ ОБОДОВОЇ КИШКИ У ЛЮДЕЙ РІЗНОГО ВІКУ

Надійшла 30.03.16

З метою визначення стану синаптичного гальмування в гладеньких м'язах стінки травного тракту жінок і чоловіків різного віку було досліджено 137 препаратів гладеньких м'язів (ГМ), отриманих із кільцевого шару м'язової оболонки ободової кишки 22 жінок різного віку (група I<sub>F</sub> – до 35 років, група II<sub>F</sub> – 36–55 років, група III<sub>F</sub> – 56–74 роки, група IV<sub>F</sub> – 75 років і більше) та 24 чоловіків різного віку (група I<sub>M</sub> – до 35 років, група II<sub>M</sub> – 36–60 років, група III<sub>M</sub> – 61–74 роки, група IV<sub>M</sub> – 75 років і більше). Стан синаптичного гальмування оцінювали за значеннями амплітудно-кінетичних параметрів гальмівних синаптичних потенціалів (ГСП) у смужках ГМ ділянок візуально нормальної ободової кишки (висхідної, поперечної, низхідної та сигмоподібної), вилучених у перебігу оперативного втручання та віддалених від патологічно зміненої зони на 10 см і більше. Використання параметричних та непараметричних методів докладного статистичного аналізу дозволило визначати відсутність статистично вірогідних розбіжностей між амплітудно-кінетичними параметрами ГСП ГМ ободової кишки чоловіків і жінок у межах кожної з вікових груп, а також між різними віковими групами чоловіків і різними віковими групами жінок. Отримані результати свідчать на користь уявлень про збереження (в основному) ефективності гальмівної синаптичної передачі в ГМ ободової кишки людей протягом життя, в тому числі на тлі вікових інволюційних змін в організмі.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** синаптичне гальмування гладеньких м'язів, ободова кишка людини, інволюційні зміни організму, вікові та гендерні групи.

### ВСТУП

Результати дослідження вікових інволюційних змін в організмі свідчать про виникнення та посилення з віком функційних порушень, котрі можуть бути зумовлені як процесами старіння, так і розвитком супутніх хвороб [1, 2]. При цьому в старших вікових групах (після 60 років) більше половини пацієнтів скаржаться на функційні порушення з боку травної системи [3, 4]; серед таких змін провідне місце належить розладам моторної функції. Відомо, що порушення моторики в системі травлення може бути наслідком інволюційних модифікацій процесів травлення, складу мікрофлори шлунка і кишок та імунного статусу стінки кишківника [3–7]. Крім того, припускають, що викликані старінням функційні зміни в системі травлення можуть бути пов'язані

зі зменшенням кількості нейронів в ентеральній нервовій системі, дегенераційними змінами в нейронних шляхах, порушеннями процесів синтезу та вивільнення нейротрансмітерів, аномальними кількостями оксиду азоту, тахікінінів, вазоактивного інтестинального поліпептиду тощо в гладеньких м'язах (ГМ) кишківника [2–4, 8, 9]. Водночас існують вказівки на компенсаторні зміни в системі травлення, спрямовані на зменшення негативного впливу інволюційних процесів в організмі. На користь цього свідчать дані про появу гіперчутливості ГМ кишківника до ацетилхоліну; даний феномен має компенсаторний характер на тлі зменшення ефективності вагусної регуляції [10].

Моторна активність ГМ у значній мірі залежить від збалансованості в зазначених м'язах процесів збудження, зумовлених переважно холінергічними механізмами, і процесів гальмування, яке в першу чергу забезпечується неадренергічними гальмівними механізмами [11–13]. Оскільки з віком у стінці кишківника передусім відбуваються дегенераційні зміни структур, відповідальних

<sup>1</sup> Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України, Київ (Україна).

Ел. пошта: g\_mykhaylo@meta.ua (М. М. Груша).

за холінергічне збудження [9], можна припустити, що ослаблення моторики в осіб старшої вікової групи відбувається на тлі певного збереження у них ефективності неадренергічного гальмування. Результати досліджень, проведених на препаратах ізольованих ГМ кишківника людини, дають підстави вважати, що провідну роль у забезпеченні нейроефекторного гальмування відіграють пуринергічні механізми [12, 14, 15]. Останні залучені в генерацію гальмівних синаптичних потенціалів (ГСП). Ці потенціали виникають в ізольованих ентеральних ГМ при їх супрамаксимальному подразненні поштовхами електричного струму. Очевидно, що важливими функційними характеристиками неадренергічного гальмування ГМ стінки кишки є значення амплітудно-кінетичних параметрів ГСП.

Звичайним видом оперативних втручань у разі різних патологій кишкового тракту є резекція певної ділянки останнього. У перебігу таких операцій є можливим вилучення зразків м'язів із топографічно близьких неуражених відділів кишки з діагностичними цілями. Згідно зі стандартними протоколами подібних операцій резекції піддається значно більша ділянка кишківника, ніж зона безпосереднього ураження патологічним процесом. У візуально нормальних фрагментах ободової кишки, віддалених на десятки сантиметрів від зони патології в травному тракті, значення амплітудно-кінетичних параметрів ГСП у м'язових смужках (МС) пацієнтів з різними патологічними змінами в травній системі є достатньо однорідними і практично відповідають нормі [15, 16].

У проведеному нами раніше дослідженні не було виявлено вірогідних розбіжностей амплітудно-кінетичних параметрів ГСП в осіб старшої вікової групи (чоловіки і жінки віком 61 рік і старше) та відповідних параметрів у молодшій віковій групі (чоловіки і жінки, молодші за 60 років) [16]. Проте вірогідність розбіжностей швидкості розвитку інволюційних змін у жінок і чоловіків, вікових змін мікробіоти кишківника, різної частоти виникнення нейродегенераційних та імунних порушень виглядала цілком реальною [7]. Тому ми вважали за доцільне порівняти значення амплітудно-кінетичних параметрів ГСП окремо в кожній віковій групі (з урахуванням загальноприйнятої періодизації онтогенезу людини) дорослих пацієнтів жіночої та чоловічої статей, використовуючи максимально коректні методи статистичного співставлення.

## МЕТОДИКА

Дослідження неадренергічного синаптичного гальмування здійснювали в ізольованих препаратах ГМ ( $n = 137$ ) кільцевого шару різних ділянок ободової кишки. З ободової кишки 22 жінок віком 19–81 рік, яким проводились операції з приводу захворювань травного тракту, були отримані 72 МС, з ободової кишки 24 чоловіків віком 32–79 років – 65 МС. МС ГМ ділянок візуально нормальної ободової кишки (висхідної, поперечної, низхідної та сигмоподібної), віддалених від патологічно зміненої зони на 10 см і більше, отримували з резекційного матеріалу з дотриманням існуючих біоетичних норм щодо проведення наукових досліджень з біологічним матеріалом. З резекційного матеріалу, видаленого з організму пацієнта за медичними показаннями, вирізали повношаровий фрагмент стінки кишки довжиною 2 і шириною 1 см та промивали розчином Кребса кімнатної температури, що мав такий склад (у мілімолях на 1 л): NaCl – 120.4, KCl – 5.9, NaHCO<sub>3</sub> – 15.5, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1.2, CaCl<sub>2</sub> – 2.5, MgCl<sub>2</sub> – 1.2, глюкоза – 11.5. З такого повношарового фрагмента видаляли слизову оболонку разом із підслизовим шаром і отримували ізольовані смужки кільцевого шару ГМ довжиною 10 і шириною 1–2 мм. Такі смужки витримували не менше 2 год у розчині Кребса, який мав температуру 35–36 °С. З метою усунення холінергічних впливів на генерацію ГСП у розчин Кребса до початку електрофізіологічних досліджень додавали блокатор М-холінорецепторів атропіну сульфат (концентрація в інкубаційному розчині  $1 \cdot 10^{-6}$  М).

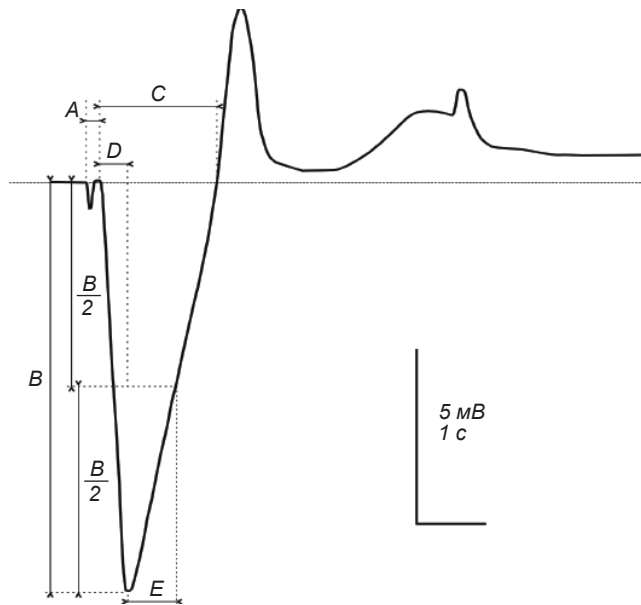
При розподілі пацієнтів по групах враховували стандартну періодизацію постнатального розвитку людини та дані досліджень про вплив інволюційних змін на синаптичні процеси і стан стінки кишківника [9, 10, 17]. З кільцевого шару ГМ ободової кишки жінок віком від 19 до 35 років (група I<sub>F</sub>), які страждали на злоякісне новоутворення товстої кишки, було отримано 10 МС (чотири – з висхідної ділянки ободової кишки та шість – із сигмоподібної ділянки ободової кишки). З кільцевого шару сигмоподібної ділянки ободової кишки жінок віком 36–55 років (група II<sub>F</sub>), які страждали на злоякісне новоутворення товстої кишки, було отримано 18 МС. З кільцевого шару ободової кишки жінок віком 56–74 роки (група III<sub>F</sub>) було отримано 14 МС (шість – із низхідної ділянки ободової кишки, п'ять – із сигмоподібної ділянки ободової кишки пацієнток із злоякісним новоутворенням товстої кишки

та три – із сигмоподібної ділянки кишки пацієн-ки, яка страждала на дивертикульоз товстої кишки). З кільцевого шару ободової кишки жінок віком від 75 до 81 року (група IV<sub>F</sub>) із злоякісним новоутворенням товстої кишки було отримано 30 МС (чотири – із висхідної ділянки ободової кишки, одну – із поперечної ділянки ободової кишки, три – із низхідної ділянки ободової кишки та 22 – із сигмоподібної ділянки ободової кишки). Серед досліджених чотирьох МС кільцевого шару ГМ ободової кишки чоловіків віком від 32 до 35 років (група I<sub>M</sub>) дві МС було отримано із сигмоподібної ділянки ободової кишки пацієнтів із злоякісним новоутворенням товстої кишки та дві МС – із висхідної ділянки ободової кишки пацієнтів, що страждали на хворобу Крона. З кільцевого шару ободової кишки чоловіків віком 36–60 років (група II<sub>M</sub>) було отримано 29 МС (дві – з висхідної ділянки ободової кишки, 18 – із сигмоподібної ділянки ободової кишки пацієнтів із злоякісним новоутворенням товстої кишки, п'ять – з поперечної ділянки ободової кишки і чотири – із сигмоподібної ділянки ободової кишки пацієнтів, що страждали на дивертикульоз товстої кишки). З кільцевого шару ободової кишки чоловіків віком 61–74 роки (група III<sub>M</sub>) було отримано 27 МС (одну – з поперечної ділянки ободової кишки пацієнта, що страждав на запалення апендикулярного відростка, п'ять – із висхідної ділянки ободової кишки, сім – із поперечної ділянки ободової кишки і 14 – із сигмоподібної ділянки ободової кишки пацієнтів із злоякісним новоутворенням товстої кишки). З кільцевого шару сигмоподібної ділянки ободової кишки чоловіків віком від 75 до 79 років (група IV<sub>M</sub>), які страждали на злоякісне новоутворення товстої кишки, було отримано п'ять МС.

Для відведення ГСП, що виникали у відповідь на супрамаксимальне інтрамуральне подразнення смужок ГМ поодинокими прямокутними поштовхами електричного струму тривалістю 0.5–1.0 мс, використовували методику одинарного “цукрозного містка” [18]. Оцінювали латентний період генерації ГСП, його амплітуду, загальну тривалість, час наростання до половини амплітуди, швидкість наростання потенціалу до половини амплітуди та час спаду ГСП до половини амплітуди (рис. 1).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням програмного забезпечення «SPSS 17.0 for Windows» [19, 20]. Відповідність розподілів значень параметрів ГСП у препаратах осіб різних вікових груп закону нормального розподілу

визначалась із застосуванням Z-критерію узгодженості Колмогорова–Смирнова для однієї виборки (Z<sub>1</sub>-критерій). Якщо розподіл варіанс за частотою окремих значень відповідав закону нормального розподілу, порівняння проводили з використанням F-критерію дисперсійного однофакторного аналізу (ANOVA), а парне порівняння значень конкретного параметра в осіб різної статі в межах однієї вікової групи – з використанням t-тесту. Оцінка результатів t-тесту проводилася з урахуванням значень тесту Левина, отриманих при визначенні гомогенності дисперсій у групах порівняння. За наявності статистично значущих результатів ANOVA використовували t-тест із α-корекцією (поправкою Бонферроні). Вибірки, в яких розподіл варіанс за частотою прояву окремих значень не відповідав закону нормального розподілу, порівнювали із застосуванням H-критерію (тест Крускала–Уолліса). Парне порівняння значень амплітудно-кінетичних параметрів ГСП в осіб різної статі в межах однієї вікової групи в разі невідповідності виборок закону нормального розподілу та у зв'язку з повторами рангових місць здійснювали за допомогою Z-критерію однорідності Колмогорова–Смирнова для двох незалежних виборок (Z<sub>2</sub>-критерій). Для виборок, в яких



**Рис. 1.** Схема вимірів амплітудно-кінетичних параметрів гальмієвих синаптичних потенціалів у гладеньких м'язах кишківника.

A – латентний період; B – амплітуда; B/2 – половина амплітуди; C – тривалість; D – час наростання до половини амплітуди; D/(B/2) – швидкість наростання до половини амплітуди; E – час спаду до половини амплітуди.

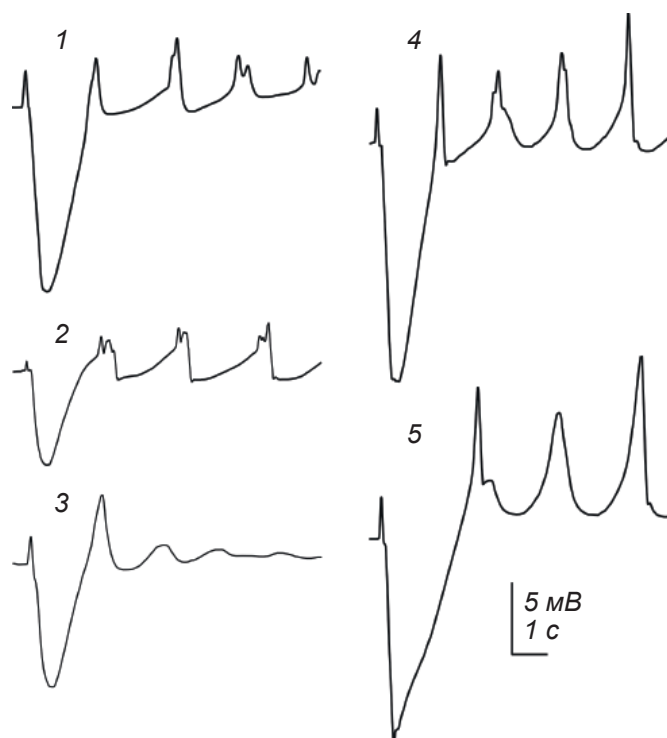
розподіл варіанс не відповідав нормальному закону, визначали коефіцієнти асиметрії ( $As$ ) та ексцесу ( $Ex$ ). Належність виборок до однієї гомогенної групи оцінювали за результатами тесту Дункана з рівнем значущості  $P = 0.05$ . Результати розрахунків дескриптивних характеристик представлені нижче як середні значення  $\pm$  стандартне відхилення ( $M \pm s.d.$ ), а при використанні множинного,  $t$ -тесту з  $\alpha$ -корекцією – як середні  $\pm$  похибка середнього ( $M \pm s.e.m.$ ). При міжгрупових порівняннях мінімально значущим рівнем вірогідності нульової гіпотези вважали  $P < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Беручи до уваги результати попередніх досліджень щодо однорідності значень ГСП ГМ ободової кишки за умови видалення ГМ із резекційних фрагментів кишківника, віддалених від патологічно зміненої ділянки при різних нозологіях на десятки сантиметрів [15], ми під час групування даних використовували виключно критерії віку і статі пацієнтів. У відповідь на супрамаксимальне інтрамуральне подразнення ГМ кільцевого шару ободової кишки пацієнтів вікових груп  $I_F$ - $IV_F$  та  $I_M$ - $IV_M$  у цих м'язах виникали ГСП з подібними діапазонами значень амплітудно-кінетичних параметрів у подібних інтервалах (рис. 2; табл. 1).

За отриманими інтервальними значеннями було розраховано дескриптивні характеристики кожної з виборок амплітудно-кінетичних параметрів ГСП та проведено аналіз щодо відповідності значень у цих виборках закону нормального розподілу з використанням  $Z$ -критерію узгодженості Колмогорова–Смирнова ( $Z_1$ -критерій) для однієї виборки (табл. 2).

Статистично значущі результати застосування  $Z_1$ -критерію, які вказували на відхилення від закону нормального розподілу, були отримані лише щодо групи  $III_M$  для латентних періодів ГСП ( $Z_1 = 1.815$ ;  $P = 0.003$ ) та щодо групи  $IV_F$  для тривалості ГСП ( $Z_1 = 1.394$ ;  $P = 0.041$ ) і часу наростання ГСП до половини амплітуди ( $Z_1 = 1.579$ ;  $P = 0.014$ ). Невідповідність розподілу варіанс цих трьох виборок закону нормального розподілу зумовлена тим, що в групі  $III_M$  вибірка значень латентного періоду ГСП характеризувалася значними асиметрією та ексцесом ( $As = 2.113$ ,  $Ex = 6.962$ ), а в групі  $IV_F$  вибірки значень тривалості ГСП та часу наростання ГСП до половини амплітуди мали істотний ексцес



Р и с. 2. Приклади гальмівних синаптичних потенціалів у гладеньких м'язах ободової кишки людини.

1 – м'язова смужка сигмоподібної ділянки ободової кишки чоловіка віком 32 роки, 2 – аналогічна смужка кишки чоловіка віком 57 років; 3 – смужка низхідної ділянки ободової кишки жінки віком 80 років; 4 – смужка висхідної ділянки ободової кишки жінки віком 19 років; 5 – смужка низхідної ділянки ободової кишки жінки віком 71 рік.

( $Ex = 3.069$  та  $6.244$ ). Водночас значення варіанс у кожній із трьох даних виборок у цілому знаходились у межах діапазонів значень, притаманних іншим групам пацієнтів.

Для кожного з рядів варіанс були розраховані дескриптивні характеристики.

Враховуючи особливості перебігу інволюційних змін у травній системі у людей різної статі, ми з використанням ANOVA (F-критерію) порівнювали значення амплітудно-кінетичних параметрів ГСП окремо в групах жінок різного віку та груп чоловіків різного віку, а також у межах груп  $I_F$ - $IV_F$  і  $I_M$ - $IV_M$ . Визначені нами дескриптивні характеристики рядів латентного періоду ГСП груп  $I_F$ - $IV_F$  і  $I_M$ - $IV_M$  представлені на рис. 3, А. Із застосуванням ANOVA була визначена величина F-критерію для груп  $I_F$ - $IV_F$ :  $F = 0.697$  ( $P = 0.557$ ). Враховуючи невідповідність розподілу значень латентного періоду ГСП у групі  $III_M$  закону нормального розподілу, ми також розраховували значення H-критерію

**Т а б л и ц я 1.** Діапазони значень амплітудно-кінетичних параметрів гальмівних синаптичних потенціалів м'язових смужок (МС) ободової кишки жінок і чоловіків різних вікових груп

Вікова група	Латентний період, мс	Амплітуда, мВ	Тривалість, с	Час наростання до половини амплітуди, мс	Швидкість наростання до половини амплітуди, мкВ/мс	Час спаду до половини амплітуди, мс	
I	I <sub>F</sub> (n = 10) Me	133 – 300 244	3.1 – 17.5 9.5	1.47 – 4.10 2.18	133 – 267 184	7.8 – 47.0 27.5	533 – 1000 733
	I <sub>M</sub> (n = 4) Me	133 – 267 200	7.9 – 14.2 11.9	1.67 – 3.00 1.93	200 – 267 200	19.8 – 30.5 27.9	700 – 867 750
II	II <sub>F</sub> (n = 18) Me	133 – 300 209	4.6 – 23.1 12.2	1.27 – 4.20 1.90	133 – 267 167	13.9 – 72.6 35.8	500 – 1067 733
	II <sub>M</sub> (n = 29) Me	100 – 300 219	3.7 – 17.2 8.1	1.27 – 4.43 1.93	100 – 233 167	11.1 – 77.5 24.8	467 – 1333 700
III	III <sub>F</sub> (n = 14) Me	100 – 333 196	4.6 – 20.0 12.4	1.40 – 3.73 1.73	133 – 200 167	13.9 – 68.4 35.6	533 – 967 700
	III <sub>M</sub> (n = 27) Me	133 – 367 197	3.08 – 25.9 10.5	1.20 – 4.87 2.20	100 – 300 167	9.5 – 77.5 31.5	400 – 1133 833
IV	IV <sub>F</sub> (n = 30) Me	67 – 267 200	3.4 – 20.7 9.7	1.47 – 5.20 1.87	67 – 400 167	10.2 – 64.3 29.8	467 – 1033 633
	IV <sub>M</sub> (n = 5) Me	233 – 333 267	12.1 – 14.7 14.1	1.90 – 2.50 2.30	167 – 233 200	30.3 – 42.2 34.5	533 – 1033 733

П р и м і т к и. В дужках вказана кількість досліджених МС. У кожній групі верхній ряд чисел – діапазон значень амплітудно-кінетичного параметра, нижній – медіани (Me) вибірок. Вікові групи жінок: I<sub>F</sub> – до 35 років, II<sub>F</sub> – 36–55 років, III<sub>F</sub> – 56–74 роки, IV<sub>F</sub> – від 75 років і більше; вікові групи чоловіків: I<sub>M</sub> – до 35 років, II<sub>M</sub> – 36–60 років, III<sub>M</sub> – 61–74 роки, IV<sub>M</sub> – від 75 років і більше.

для груп I<sub>M</sub>-IV<sub>M</sub> (H = 7.441; P = 0.059). Парне порівняння значень латентного періоду ГСП у пацієнтів різної статі в межах кожної вікової групи дало такі результати: для груп I<sub>F</sub>-I<sub>M</sub> t = 0.566 (P = 0.582), II<sub>F</sub>-II<sub>M</sub> – t = 0.423 (P = 0.675) та груп IV<sub>F</sub>-IV<sub>M</sub> t = 2.916 (P = 0.006). Враховуючи факти невідповідності розподілу варіанс у групі III<sub>M</sub> закону нормального розподілу та повторів рангових місць у виборках, для парного порівняння вікових груп III<sub>F</sub>-III<sub>M</sub> за значеннями латентного періоду ГСП ми застосували Z-критерій для двох незалежних вибірок і отримали такий результат: Z<sub>2</sub> = 0.522 (P = 0.948).

Дескриптивні характеристики рядів значень амплітуди ГСП у групах I<sub>F</sub>-IV<sub>F</sub> і I<sub>M</sub>-IV<sub>M</sub> представлені на рис. 3, Б. Застосування ANOVA дало змогу визначити значення F-критерію для груп I<sub>F</sub>-IV<sub>F</sub> (F = 0.962; P = 0.416) та для груп I<sub>M</sub>-IV<sub>M</sub> (F = 3.371; P = 0.024). Оскільки розподіли варіанс за значеннями амплітуди ГСП у кожній з груп, що аналізувалися, відповідали закону нормального розподілу, то розрахунки H-критерію не проводилися (через його меншу потужність порівняно з F-критерієм). Пар-

не порівняння значень амплітуди ГСП в осіб різної статі в межах кожної вікової групи дало такі результати: для груп I<sub>F</sub>-I<sub>M</sub> t = 0.776 (P = 0.454), II<sub>F</sub>-II<sub>M</sub> – t = 2.785 (P = 0.008), III<sub>F</sub>-III<sub>M</sub> – t = 0.328 (P = 0.745) та груп IV<sub>F</sub>-IV<sub>M</sub> t = 3.253 (P = 0.003).

Визначені дескриптивні характеристики рядів значень тривалості ГСП у групах I<sub>F</sub>-IV<sub>F</sub> і I<sub>M</sub>-IV<sub>M</sub> представлені на рис. 3, В. Застосування ANOVA дозволило визначити таке значення F-критерію для груп I<sub>M</sub>-IV<sub>M</sub>: F = 0.671 (P = 0.573). Враховуючи невідповідність розподілу варіанс тривалості ГСП у групі IV<sub>F</sub> закону нормального розподілу, ми розрахували значення H-критерію для груп I<sub>F</sub>-IV<sub>F</sub> (H = 3.070; P = 0.381). При парному порівнянні значень тривалості ГСП в осіб різної статі в межах кожної вікової групи були отримані такі результати: для груп I<sub>F</sub>-I<sub>M</sub> t = 0.720 (P = 0.485), II<sub>F</sub>-II<sub>M</sub> – t = 0.798 (P = 0.429), III<sub>F</sub>-III<sub>M</sub> – t = 1.656 (P = 0.106). Оскільки розподіл варіанс у групі IV<sub>F</sub> не відповідав вимозі нормальності, для парного порівняння вікових груп IV<sub>F</sub>-IV<sub>M</sub> за значеннями тривалості ГСП застосували Z-критерій для двох незалежних вибірок і отримали наступний результат: Z<sub>2</sub> = 1.104 (P = 0.175).



**Т а б л и ц я 2.  $Z_1$ -критерій виборок значень амплітудно-кінетичних параметрів гальмівних синаптичних потенціалів м'язових смужок (МС) ободової кишки жінок і чоловіків різних вікових груп**

Вікова група	Латентний період, мс	Амплітуда, мВ	Тривалість, с	Час наростання до половини амплітуди, мс	Швидкість наростання до половини амплітуди, мкВ/мс	Час спаду до половини амплітуди, мс	
I	$I_F (n = 10)$	0.704 $P=0.704$	0.622 $P=0.834$	0.713 $P=0.690$	0.774 $P=0.587$	0.338 $P=1.000$	0.399 $P=0.997$
	$I_M (n = 4)$	0.500 $P=0.964$	0.545 $P=0.928$	0.500 $P=0.964$	0.883 $P=0.417$	0.531 $P=0.941$	0.586 $P=0.883$
II	$II_F (n = 18)$	0.827 $P=0.502$	0.459 $P=0.984$	0.946 $P=0.333$	1.002 $P=0.268$	0.537 $P=0.935$	0.544 $P=0.929$
	$II_M (n = 29)$	0.799 $P=0.547$	0.759 $P=0.612$	1.225 $P=0.099$	0.962 $P=0.314$	1.310 $P=0.064$	1.056 $P=0.214$
III	$III_F (n = 14)$	0.741 $P=0.643$	0.494 $P=0.968$	0.967 $P=0.307$	1.000 $P=0.271$	0.801 $P=0.543$	0.631 $P=0.820$
	$III_M (n = 27)$	1.815 $P=0.003 *$	0.789 $P=0.561$	1.050 $P=0.221$	1.081 $P=0.193$	0.848 $P=0.469$	0.415 $P=0.995$
IV	$IV_F (n = 30)$	0.854 $P=0.459$	0.703 $P=0.706$	1.394 $P=0.041 *$	1.579 $P=0.014 *$	0.565 $P=0.907$	1.139 $P=0.150$
	$IV_M (n = 5)$	0.309 $P=1.000$	0.707 $P=0.699$	0.776 $P=0.583$	0.515 $P=0.953$	0.569 $P=0.903$	0.737 $P=0.649$

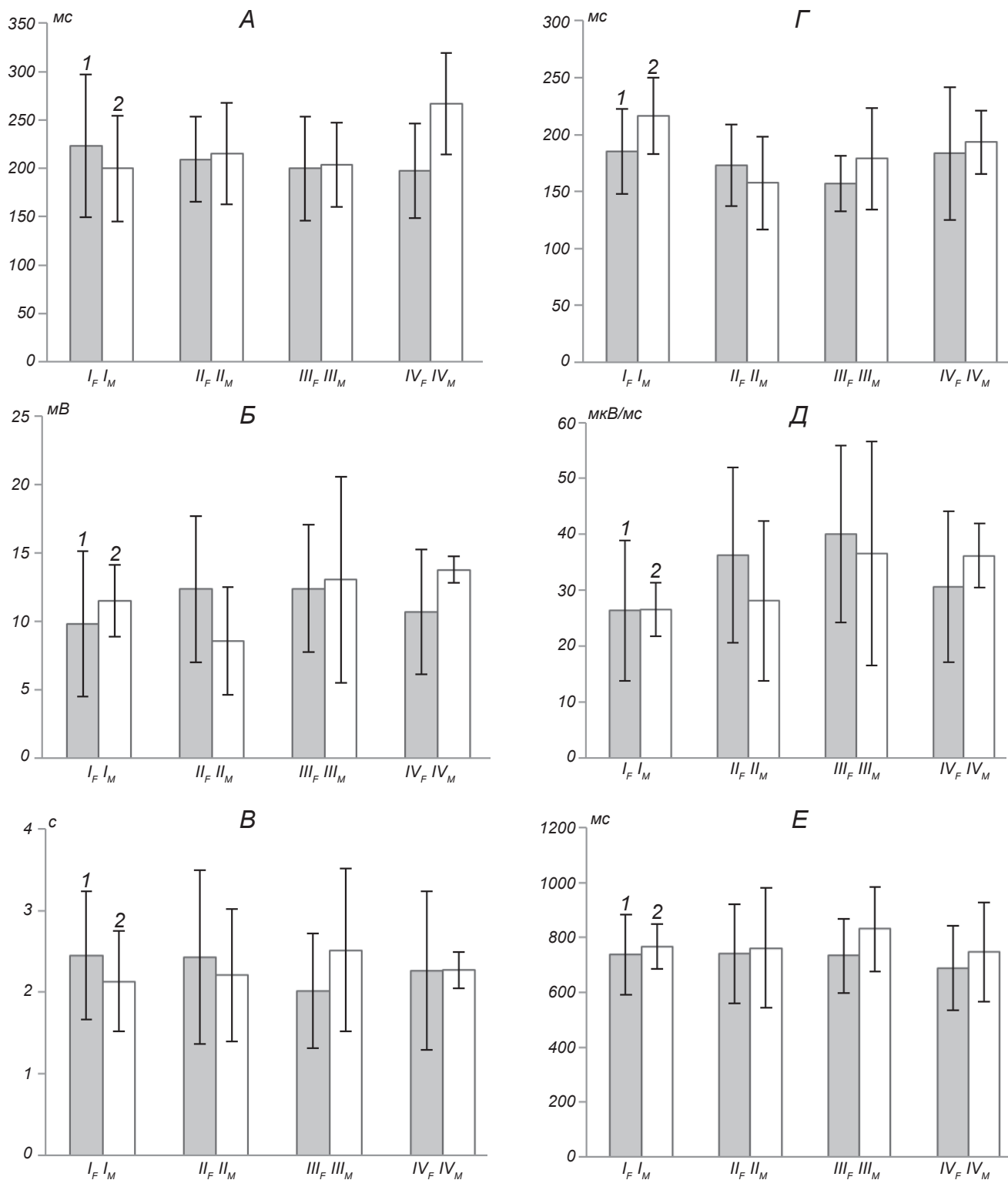
П р и м і т к и. У кожній групі верхній ряд чисел – значення  $Z_1$ -критерію для однієї виборки амплітудно-кінетичного параметра, нижній – рівень його значущості (вірогідність нульової гіпотези). Зірочками позначено вибірки, в яких значення  $Z_1$ -критерію для однієї виборки не підтверджує відповідності розподілу варіанс закону нормального розподілу. Решта позначень ті ж самі, що й у табл. 1.

Визначені дескриптивні характеристики рядів значень часу наростання ГСП до половини амплітуди для груп  $I_F$ - $IV_F$  і  $I_M$ - $IV_M$  представлені на рис. 3, Г. Застосування ANOVA дало таку величину F-критерію для груп  $I_M$ - $IV_M$ :  $F = 3.450$  ( $P = 0.022$ ). Враховуючи невідповідність розподілу тривалостей наростання ГСП до половини амплітуди в групі  $IV_F$  вимозі нормальності, ми також розрахували значення H-критерію для груп  $I_F$ - $IV_F$  ( $H = 5.398$ ;  $P = 0.145$ ). Парне порівняння значень часу наростання ГСП до половини амплітуди в осіб різної статі в межах кожної вікової групи дало такі результати: для груп  $I_F$ - $I_M$   $t = 1.470$  ( $P = 0.167$ ),  $II_F$ - $II_M$  –  $t = 1.351$  ( $P = 0.183$ ) та  $III_F$ - $III_M$  –  $t = 1.708$  ( $P = 0.096$ ). Оскільки розподіл варіанс у групі  $IV_F$  не мав вважатися нормальним, для парного порівняння вікових груп  $IV_F$ - $IV_M$  за значеннями часу наростання до половини амплітуди ГСП застосували Z-критерій для двох незалежних виборок:  $Z_2 = 0.821$  ( $P = 0.510$ ).

Визначені дескриптивні характеристики рядів значень швидкості наростання ГСП до половини амплітуди груп  $I_F$ - $IV_F$  і  $I_M$ - $IV_M$  наведені на рис. 3, Д.

Застосування ANOVA дало змогу визначити такі значення F-критерію: для груп  $I_F$ - $IV_F$   $F = 2.396$  ( $P = 0.076$ ), а для груп  $I_M$ - $IV_M$   $F = 1.497$  ( $P = 0.224$ ). Оскільки розподіли варіанс за значеннями швидкості наростання ГСП до половини амплітуди в кожній із груп, що аналізувалися, можна було вважати нормальними, то розрахунки H-критерію не проводилися, зважаючи на його меншу потужність порівняно з F-критерієм. Парне порівняння значень швидкості наростання ГСП до половини амплітуди в осіб різної статі в межах кожної вікової групи дало такі результати: для груп  $I_F$ - $I_M$   $t = 0.879$  ( $P = 0.385$ ),  $II_F$ - $II_M$  –  $t = 1.207$  ( $P = 0.242$ ),  $III_F$ - $III_M$  –  $t = 0.575$  ( $P = 0.569$ ) та для груп  $IV_F$ - $IV_M$   $t = 0.895$  ( $P = 0.377$ ).

Визначені дескриптивні характеристики рядів значень часу спаду ГСП до половини амплітуди груп  $I_F$ - $IV_F$  і  $I_M$ - $IV_M$  представлені на рис. 3, Е. Застосування ANOVA дало такі значення F-критерію: для груп  $I_F$ - $IV_F$   $F = 0.579$  ( $P = 0.631$ ), а для груп  $I_M$ - $IV_M$   $F = 0.789$  ( $P = 0.505$ ). Оскільки розподіл значень часу спаду ГСП до половини амплітуди в кожній з аналізованих груп можна було вважати



**Р и с. 3.** Середні значення амплітудно-кінетичних параметрів гальмівних синаптичних потенціалів (ГСП) у м'язових смужках ободової кишки жінок і чоловіків різних вікових груп ( $M \pm s.d.$ ).

На *A* – значення латентного періоду, на *B* – амплітуди, на *Г* – тривалості ГСП, на *Д* – значення часу, на *Е* – швидкості наростання ГСП до половини амплітуди, на *Е* – значення часу спаду ГСП до половини амплітуди. 1 – жінки, 2 – чоловіки. Під діаграмами вказані вікові групи жінок (I<sub>F</sub> – до 35 років, II<sub>F</sub> – 36–55 років, III<sub>F</sub> – 56–74 роки, IV<sub>F</sub> – від 75 років і старше) та вікові групи чоловіків (I<sub>M</sub> – до 35 років, II<sub>M</sub> – 36–60 років, III<sub>M</sub> – 61–74 роки, IV<sub>M</sub> – від 75 років і більше).

нормальними, розрахунки Н-критерію не проводилися (також беручи до уваги його меншу потужність, ніж у F-критерію). При парному порівнянні значень часу спаду ГСП до половини амплітуди в осіб різної статі в межах кожної вікової групи були отримані такі результати: для груп I<sub>F</sub>-I<sub>M</sub>  $t = 0.386$  ( $P = 0.706$ ), II<sub>F</sub>-II<sub>M</sub>  $t = 0.328$  ( $P = 0.745$ ), III<sub>F</sub>-III<sub>M</sub>  $t = 2.001$  ( $P = 0.052$ ), IV<sub>F</sub>-IV<sub>M</sub>  $t = 0.769$  ( $P = 0.447$ ).

Таким чином, результати проведеного статистичного аналізу продемонстрували, що амплітудно-кінетичні параметри ГСП, генерованих у МС жінок і чоловіків різних вікових груп, є в цілому подібними. Аналіз варіаційних рядів значень таких амплітудно-кінетичних параметрів ГСП, як тривалість, швидкість наростання до половини амплітуди та час спаду до половини амплітуди, практично не виявив істотних (статистично вірогідних) розбіжностей між окремими віковими групами.

Вважається, що швидкість наростання амплітуди ГСП визначається синхронністю вивільнення нейротрансмітера з нервових терміналей і швидкістю збільшення його концентрації в безпосередній близькості до хеморецепторів клітини-мішені. Час спаду амплітуди ГСП зумовлюється зменшенням концентрації медіатора в зоні поруч із рецепторами і тривалістю відкритого стану хемокерованих іонних каналів, а загальна тривалість ГСП визначається тривалістю вивільнення нейротрансмітера з нервових закінчень та ефективністю його усунення з хеморецепторної зони синапсу [21]. Відсутність статистично значущих розбіжностей між різними віковими групами щодо швидкості наростання ГСП до половини амплітуди дає підстави вважати, що в ГМ ободової кишки синхронність виділення з нервових терміналей нейротрансмітера, відповідального за неадренергічне гальмування, в осіб різної статі з віком істотно не змінюється. Збереження однорідності значень часу спаду ГСП до половини амплітуди в різних вікових групах жінок та чоловіків свідчить про те, що на тлі загальних інволюційних змін в організмі людини процеси, спрямовані в своїй сукупності на забезпечення зменшення концентрації відповідного медіатора в зоні нервового закінчення, залишаються досить стабільними та ефективними.

Водночас аналіз варіаційних рядів значень таких амплітудно-кінетичних параметрів ГСП, як латентний період, амплітуда і час наростання до половини амплітуди, виявив наявність певних статистично вірогідних розбіжностей між окремими віковими групами. Вважається, що амплітуда ГСП залежить від

кількості хеморецепторів постсинаптичної мембрани, активованих трансмітером/трансмітерами, та керованих цими рецепторами кальційзалежних калієвих каналів різної провідності. На час же наростання ГСП до половини амплітуди впливає тривалість виділення нейротрансмітера з нервової терміналей [21]. З метою визначення причин виявлених нами статистично значущих розбіжностей між значеннями латентного періоду ГСП для груп IV<sub>F</sub>-IV<sub>M</sub> ( $t = 2.916$ ;  $P = 0.006$ ), амплітуди ГСП для груп I<sub>M</sub>-IV<sub>M</sub> ( $F = 3.371$ ;  $P = 0.024$ ) і II<sub>F</sub>-II<sub>M</sub> ( $t = 2.785$ ;  $P = 0.008$ ), IV<sub>F</sub>-IV<sub>M</sub> ( $t = 3.253$ ;  $P = 0.003$ ) та часу наростання ГСП до половини амплітуди для груп I<sub>M</sub>-IV<sub>M</sub> ( $F = 3.450$ ;  $P = 0.022$ ) ми додатково проаналізували частотні і модальні значення кожної з цих виборок та провели парне порівняння значень конкретного параметра ГСП в осіб різної статі в межах однієї вікової групи з використанням множинного  $t$ -тесту з  $\alpha$ -корекцією.

При аналізі вибірки значень латентного періоду ГСП у віковій групі IV<sub>M</sub> ми намагалися визначити полімодальність/унімодальність розподілу величин цього показника. Оскільки полімодальність вибірки збільшує імовірність появи похибок типу I [19, 20], для порівняння груп IV<sub>F</sub>-IV<sub>M</sub> нами було застосовано Z-критерій для двох незалежних вибірки і отримано такий результат:  $Z_2 = 0.966$ ;  $P = 0.308$ . Відомо, що латентний період ГСП зумовлюється часом виділення нейротрансмітера, тривалістю його дифузії до постсинаптичної мембрани та тривалістю активації ним відповідних чутливих до нього хеморецепторів [21]. Відсутність статистично значущих різниць при порівнянні виборок цього амплітудно-кінетичного параметра ГСП у різних вікових групах чоловіків і жінок дає підстави вважати, що інволюційні зміни в організмі людини не впливають критично на процеси, відображувані цим параметром.

Результати однофакторного дисперсійного аналізу значень часу наростання ГСП до половини амплітуди в групах I<sub>M</sub>-IV<sub>M</sub> ( $F = 3.450$ ;  $P = 0.022$ ) засвідчили, що відповідні вибірки мають статистично значущі розбіжності. З метою визначення конкретних вікових груп, між якими існують такі істотні розбіжності, було використано потужніший множинний  $t$ -тест з  $\alpha$ -корекцією. Отримані результати застосованого тесту (табл. 3) не підтвердили існування кардинальних розбіжностей між такими вибірками (для часу наростання ГСП до половини амплітуди) у вікових групах I<sub>M</sub>-IV<sub>M</sub>. Отже, значущість F-критерію виявляється несправжньо пози-



**Т а б л и ц я 3. Результати множинного *t*-тесту з  $\alpha$ -корекцією середніх значень параметрів гальмівних синаптичних потенціалів (ГСП) у м'язових смужках (МС) ободової кишки чоловіків різних вікових груп ( $M \pm s.e.$ , мс)**

Параметр ГСП	Групи порівняння					
	$I_M (n=4) -$ $II_M (n=29)$	$I_M (n=4) -$ $III_M (n=27)$	$I_M (n=4) -$ $IV_M (n=5)$	$II_M (n=29) -$ $III_M (n=27)$	$II_M (n=29) -$ $IV_M (n=5)$	$III_M (n=27) -$ $IV_M (n=5)$
Амплітуда	2.9±3.0 <i>P</i> =1.000	1.5±3.0 <i>P</i> =1.000	2.3±3.8 <i>P</i> =1.000	4.5±1.5 * <i>P</i> =0.027	5.2±2.7 <i>P</i> =0.370	0.7±2.7 <i>P</i> =1.000
Час наростання до половини амплітуди	59.3±22.1 <i>P</i> =0.056	37.7±22.2 <i>P</i> =0.566	23.4±27.8 <i>P</i> =1.000	21.6±11.1 <i>P</i> =0.334	35.9±20.0 <i>P</i> =0.468	14.3±20.1 <i>P</i> =1.000

Примітки. Зірочкою позначена статистично значуща розбіжність. В кожній групі даних верхній ряд – різниця між середніми, нижній – рівень її значущості. Решта позначень ті ж самі, що й у табл. 1.

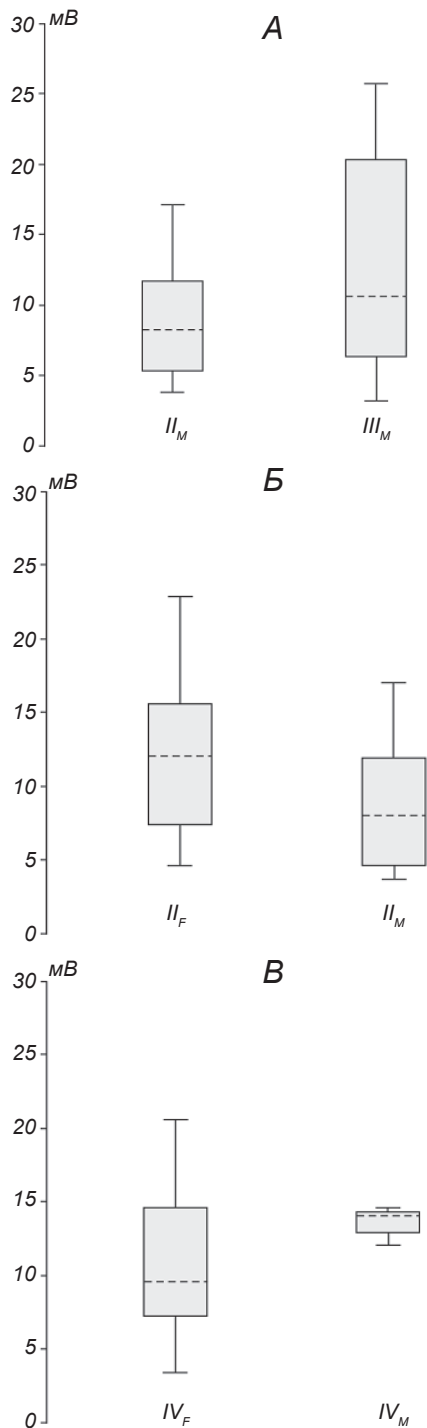
тивною, оскільки розбіжність між групами  $I_M$ - $II_M$  наближається до рівня значущості ( $P < 0.05$ ), але не досягає його.

Оскільки при порівнянні вибірок значень часу наростання ГСП до половини амплітуди в кожній відповідній віковій групі осіб чоловічої та жіночої статей істотні статистично вірогідні розбіжності не були виявлені, можна думати, що інволюційні зміни в організмі людини не чинять драматичного впливу на процеси, асоційовані із вказаним параметром ГСП. З припущенням про відсутність чітких пов'язаних з віковою інволюцією різниць часу вивільнення нейротрансмітера з нервових терміналей та ефективності його усунення з хеморецепторної зони в перебігу неадренергічної синаптичної передачі узгоджуються отримані нами факти – подібність діапазонів значень тривалості ГСП у різних вікових групах чоловіків і жінок та відсутність статистично значущих розбіжностей між відповідними віковими групами за цим амплітудно-кінетичним параметром.

Результати застосування ANOVA для значень амплітуди ГСП у групах  $I_M$ - $IV_M$  ( $F = 3.371$ ;  $P = 0.024$ ) вказують на існування певних розбіжностей між виборками даних. З метою визначення конкретних вікових груп із статистично значущими розбіжностями, що зумовили статистичну значущість *F*-критерію, ми, як і в попередньому випадку, використали множинний *t*-тест з  $\alpha$ -корекцією (табл. 3). Результати такого тесту з корекцією вказують на те, що статистично значущі розбіжності між виборками амплітуди ГСП у вікових групах  $II_M$  та  $III_M$  дійсно існують. У той же час квартильні значення цих виборок та розмах варіації свідчать про належність значень амплітуди ГСП у групах  $II_M$  та  $III_M$  до однієї гомогенної групи (рис. 4, А). Цей висновок узгоджується з результатами багаторанго-

вого тесту Дункана ( $P = 0.05$ ). Отже, виявлені при первинному порівнянні статистично вірогідні розбіжності між групами  $II_M$  та  $III_M$  зумовлені лише більшою варіабельністю амплітуди ГСП у ряді вікової групи  $III_M$  порівняно з такою у віковій групі  $II_M$ . Крім того, за результатами багаторангового тесту Дункана, всі вибірки значень амплітуди ГСП у різних вікових групах, незважаючи на вірогідні розбіжності, виявлені за допомогою парного порівняння груп  $II_F$ - $II_M$  ( $t = 2.785$ ;  $P = 0.008$ ) та  $IV_F$ - $IV_M$  ( $t = 3.253$ ;  $P = 0.003$ ), можна вважати такими, що відносяться до однієї гомогенної групи ( $P = 0.05$ ). Результати аналізу квартильних значень у виборках та розмаху варіацій значень амплітуди ГСП у вікових групах  $II_F$ - $II_M$  та  $IV_F$ - $IV_M$  також свідчать про належність даних величин до однієї гомогенної групи (Б, В). Це також узгоджується з результатами багаторангового тесту Дункана ( $P = 0.05$ ).

Відомо, що інволюційні зміни в ободовій кишці проявляються в збільшенні тривалості кишкового транзиту на тлі зниження пропульсивної активності [6, 22]. Клінічно старіння організму на рівні нижніх відділів травної системи найчастіше проявляється в закрепах, на які страждає більше половини осіб похилого віку [1, 23]. Серед імовірних нейрофізіологічних причин таких порушень вказують на зменшення кількості нейронів ентеральної системи в стінці кишки, а також на послаблення синтезу та вивільнення нейротрансмітерів [24–26]. Результати досліджень інволюційних змін на моделях лабораторних тварин показали, що експресія NO-синтази в мієнтеральному сплетенні товстої кишки знижується, а вивільнення ацетилхоліну з ентеральних нейронів у старих щурів істотно зменшується [25, 26]. В окремих дослідженнях було з'ясовано, що вікові інволюційні зміни зумовлюють зменшення кількості скоротливих білків у стінці ободової



**Р и с. 4.** Діаграми середніх значень амплітуди гальмівних синаптичних потенціалів (ГСП) у м'язових смужках ободової кишки жінок і чоловіків різних вікових груп.

На *A* – вікових груп чоловіків  $II_M$  (36–60 років) та  $III_M$  (61–74 роки); на *B* – вікової групи жінок  $II_F$  (36–55 років) та вікової групи чоловіків  $II_M$  (36–60 років); на *B* – вікової групи жінок  $IV_F$  (від 75 років і більше) та вікової групи чоловіків  $IV_M$  (від 75 років і більше). Заштрихованими прямокутниками позначено кватильний розмах, пунктиром – медіану; вказано також розмах варіації.

кишки [27]. Водночас обстеження різних вікових груп мишей не виявило істотного впливу старіння на кількість nNOS-імунореактивних нейронів у стінці дистальної ділянки ободової кишки [28]. В нашому дослідженні також не було знайдено статистично вірогідних розбіжностей між значеннями амплітудно-кінетичних параметрів ГСП (латентного періоду генерації ГСП, амплітуди ГСП, загальної тривалості цих потенціалів, часу наростання ГСП до половини амплітуди, швидкості наростання до половини амплітуди та часу спаду ГСП до половини амплітуди) у дорослих людей різних вікових груп. Отримані результати свідчать на користь того, що ефективність неадренергічної синаптичної передачі в ГМ ободової кишки людей під час старіння організму значною мірою зберігається. Це дає підстави припускати, що на тлі істотних вікових інволюційних змін холінергічної передачі [26] збереження ефективності гальмівної неадренергічної синаптичної передачі в ГМ ободової кишки може бути однією з причин появи у пацієнтів старшої вікової групи порушень моторики кишківника та збільшення тривалості транзиту його вмісту.

Робота була проведена відповідно до положень Хельсинської Декларації (1975, пізніші редакції 1996–2013). Попередня інформована письмова згода була отримана від усіх суб'єктів, у яких у перебігу операцій вилучали фрагменти стінок кишки.

Автори даної роботи – М. М. Груша та О. В. Романенко – підтверджують відсутність будь-яких конфліктів щодо комерційних або фінансових відносин, відносин з організаціями, котрі будь-яким чином могли бути пов'язані з дослідженням, а також взаємовідносин співавторів статті.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. M. J. Saffrey, "Aging of the mammalian gastrointestinal tract: a complex organ system," *Age*, **36**, 1019-1032 (2014).
2. K. Blashut, L. Paradowski, and J. Garcarek, "Prevalence and distribution of the colonic diverticulosis. Review of 417 cases from Lower Silesia in Poland," *Rom. J. Gastroenterol.*, **13**, No. 4, 281-285 (2004).
3. R. De Giorgio, E. Ruggeri, V. Stanghellini, et al., "Chronic constipation in the elderly: a primer for the gastroenterologist," *BMC Gastroenterol.*, **15**, No. 130, 1-13, doi: 10.1186/s12876-015-0366-3 (2015).
4. M. V. Roque and E. P. Bouras, "Epidemiology and management of chronic constipation in elderly patients," *Clin. Interv. Aging*, **10**, 919-930 (2015).
5. J. F. Gallegos-Orozco, A. E. Fox-Orenstein, S. M. Sterler, and J. M. Stoa, "Chronic constipation in the elderly," *Am. J. Gastroenterol.*, **107**, 18-25 (2012).

6. E. Britton and J. T. McLaughlin, "Ageing and the gut," *Proc. Nutr. Soc.*, **72**, 173-177 (2013).
7. R. Ostan, D. Monti, P. Gueres, et al., "Gender, aging and longevity in humans: an update of an intriguing/neglected scenario paving the way to a gender-specific medicine," *Clin. Sci.*, **130**, 1711-1725 (2016).
8. P. R. Wade and T. Cowen, "Neurodegeneration: a key factor in the ageing gut," *Neurogastroenterol. Mot.*, **16**, Suppl. 1, 19-23 (2004).
9. C. H. Knowles and C. D. Martin, "Slow transit constipation: a model of human gutdysmotility. Review of possible aetiologies," *Neurogastroenterol. Mot.*, **12**, 181-196 (2000).
10. A. J. Yun, K. A. Bazar, and P. Y. Lee, "A new mechanism for diverticular diseases: aging-related vagal withdrawal," *Med. Hypoth.*, **64**, No. 2, 252-255 (2005).
11. G. Burnstock, "Purinergic signaling," *Br. J. Pharmacol.*, **147**, S172-S181 (2006).
12. D. Gallego, V. Gil, J. Aleu, et al., "Purinergic and nitrergic junction potential in the human colon," *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **295**, G522-G533 (2008).
13. M. F. Shuba, I. A. Vladimirova, and I. B. Philypov, "Mechanisms of the inhibitory action of neurotransmitters on smooth muscles," *Neurophysiology*, **35**, Nos. 3/4, 252-261 (2003).
14. R. K. Goyal, M. P. Sullivan, and A. Chaudhury, "Progress in understanding of inhibitory purinergic neuromuscular transmission in the gut," *Neurogastroenterol. Mot.*, **25**, 203-207 (2013).
15. A. V. Romanenko and M. M. Grusha, "Synaptic inhibition of smooth muscles of the human colon: Effects of vitamin B<sub>6</sub> and its derivatives," *Neurophysiology*, **38**, No. 4, 217-227 (2006).
16. M. M. Grusha and A. V. Romanenko, "Synaptic inhibition in colonic smooth muscles in humans of different age groups," *Neurophysiology*, **44**, No. 2, 106-114 (2012).
17. J. M. Crain, M. Nikodemova, and J. J. Wotters, "Expression of P2 nucleotide receptors varies with age and sex in murine brain microglia," *J. Neuroinflammation*, **6**, No. 24, 1-16 (2009).
18. G. Burnstock and R. W. Straub, "A method for studying the effects of ions and drugs on the resting and action potentials in smooth muscle with external electrodes," *J. Physiol.*, **140**, 156-167 (1958).
19. B. R. Kirkwood and J. A. C. Sterne, *Essential Medical Statistics*, Blackwell Publ., Malden (2003).
20. A. Petrie and C. Sabin, *Medical Statistics at a Glance*, Blackwell Sci., Malden (2000).
21. I. A. Vladimirova, V. P. Zagorodnyuk, I. V. Ostrovsky, et al., "Ultrasound-induced changes in synaptic processes with different transmitters in smooth muscles," *Neurophysiology*, **25**, No. 4, 251-256 (1993).
22. N. Salles, "Basic mechanisms of the aging gastro-intestinal tract," *Dig. Dis.*, **25**, 112-117 (2007).
23. P. Gallagher and D. O'Mahony, "Constipation in old age," *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, **23**, 875-887 (2009).
24. O. A. Gomes, R. R. de Souza, and E. A. Liberti, "A preliminary investigation of the effects of aging on the nerve cell number in the myenteric ganglia of the human colon," *Gerontology*, **43**, 210-217 (1997).
25. T. Takahashi, A. Qoubaitary, C. Owyang, et al., "Decreased expression of nitric oxide synthase in the colonic myenteric plexus of aged rats," *Brain Res.*, **883**, 15-21 (2000).
26. D. Roberts, D. Gelperin, and J. W. Wiley, "Evidence for age-associated reduction in acetylcholine release and smooth muscle response in the rat colon," *Am. J. Physiol.*, **267**, G515-G552 (1994).
27. D. T. Asuzu, Y. Hayashi, F. Izbeki, et al., "Generalized neuromuscular hypoplasia, reduced smooth muscle myosin and altered gut motility in the klotho model of premature aging," *Neurogastroenterol. Mot.*, **23**, e309-e323 (2011).
28. P. P. Gamage, R. N. Ranson, B. A. Patel, et al., "Myenteric neuron numbers are maintained in aging mouse distal colon," *Neurogastroenterol. Mot.*, **25**, e495-e505 (2013).