

УДК 612.337-047.37

Пилипенко С. В.

ТРАНСПОРТ ВОДИ І ЕЛЕКТРОЛІТІВ ЧЕРЕЗ ЕПІТЕЛІЙ ОБОДОВОЇ КИШКИ ТА ЕКСПРЕСІЯ CFTR КАНАЛІВ У ЩУРІВ ПІСЛЯ 28-МИ ДНІВ ВВЕДЕННЯ ОМЕПРАЗОЛУ

Полтавський національний педагогічний університет ім. В. Г. Короленка

pilipenko_s@ukr.net

В статті викладені дані щодо результатів дослідження впливу тривалої шлункової гіпохлоргідрії на транспорт води і електролітів через епітелій ободової кишки та експресії CFTR каналів у щурів. Встановлено, що зниження скоротливої активності гладеньких м'язів ободової кишки на фоні гіпергастринемії та дисбактеріозу супроводжується включенням захисних механізмів, які включають в себе збільшення експресії CFTR каналів та збільшення секреції води. Тобто, розвиток діареї на фоні тривалого пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти у шлунку не є наслідком змін у моториці травного тракту, а обумовлено порушенням транспорту води та електролітів через епітелій товстої кишки.

Ключові слова: гіпохлоргідрія; гіпергастринемія; дисбактеріоз; CFTR канали; моторика.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження проведені в рамках наукової теми Навчально-наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка як складова частина комплексної теми «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій», № держ. реєстрації 0111U004648.

Вступ. Останні роки ознаменувались великим інтересом науковців і клініцистів до проблеми функціонування органів травної системи в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії, наслідком якої є гіпергастринемія, а вона, як відомо, є вагомим фактором росту та розвитку пухлин у шлунково-кишковому тракті [11, 17].

Також важливим, наслідком тривалого зниження секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку є розвиток дисбактеріозу у різних біотопах травного тракту [13, 22].

Гіпергастринемія та дисбактеріоз можуть порушувати моторно-евакуаторну функцію травного тракту, що, в свою чергу, посилюватиме розвиток хронічного запального процесу. Аналіз доступної літератури свідчить про обмеженість та протиречивість даних, отриманих різними авторами щодо

моторної функції травного тракту на фоні пригнічення секреції HCl в шлунку [12, 26].

Як відомо, пригнічення моторної активності товстої кишки є причиною розвитку закрепів [9, 14]. Проте, у щурів після 28-ми днів введення омепразолу ми часто спостерігали діарею. На користь цього спостереження можна навести дані літератури про те, що тривала гіпергастринемія (а вона може бути викликана тривалим введенням омепразолу) часто супроводжується діареями [16]. Також відомо, що холера і секреторна діарея, викликана ентеротоксичною *E. coli*, розвиваються у людей із зниженою кислотністю шлункового соку [15].

Причинами розвитку цієї діареї може бути посилення моторики кишечника і / або зменшення його всмоктувального потенціалу. Так як ми не спостерігали у попередніх експериментах посилення моторики після тривалого пригнічення секреції HCl в шлунку, наші зусилля були спрямовані на дослідження транспорту води і електролітів через епітелій ободової кишки та експресії CFTR каналів у щурів після 28-ми днів введення омепразолу.

Метою даної роботи було дослідити транспорт води і електролітів через епітелій товстої кишки щурів на тлі тривалої шлункової гіпохлоргідрії.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведені на білих нелінійних щурах-самцях з початковою вагою 160–180 г, розділених на дві групи по 12 тварин у кожній. Щури I групи слугували контролем, їм упродовж 28 днів щоденно внутрішньоочеревенно (в/о) вводили 0,5 мл води для ін'єкцій. Щурам II групи щоденно упродовж 28 днів вводили один раз на добу внутрішньоочеревинно (в/о) омепразол (виробництва «Sigma-Aldrich» США) в дозі 14 мг/кг, розчинений в 0,2 мл води для ін'єкцій [5]. Тварин утримували в акредитованому віварію Навчально-наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». Всі експерименти проведені відповідно до Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Перед початком експерименту щурів утримували на голоді з вільним доступом до води упродовж 12 годин. Для наркотизації тварин використовували уретан, який вводили в/о в дозі 1,1 г/кг (Sigma, USA).

Транспорт води і електролітів у товстій кишці досліджували методом перфузії ізольованої ділянки кишки в умовах *in vivo* [4, 23]. За допомогою електричної грілки підтримували постійну температуру тіла щурів (37 °C). Для попередження респіраторної недостатності проводили трахеотомію. Далі робили розріз по білій лінії черевної порожнини, через який підтягували товсту кишку для подальших маніпуляцій, а саме: введення привідного катетера через розріз за ілеоцекальним з'єднанням та вивідного катетера через розріз 6–8 см дистальніше від привідного катетера у ділянці переходу ободової кишки у пряму. Через привідний катетер, який під'єднували до перистальтичного насосу (МНП•1ДУ), подавали попередньо підігрітий до 37°C перфузійний розчин з постійною швидкістю 0,18–0,2 мл/хв. Через вивідний катетер збирали відтікаючий (аспірований) розчин. Перед початком експерименту для видалення фекальних залишків сегмент товстої кишки промивали теплим фізіологічним розчином.

В якості перфузійного використовували модифікований ізотонічний (фізіологічний) розчин Кребса-Хенселейта, склад якого становив (ммоль/л): NaCl – 117; KCl – 5,9; NaHCO₃ – 24,8; CaCl – 2,5; MgCl – 1,2; NaH₂PO – 1,2; глюкоза – 5,5; pH=7,4.

Після еквілібраційного періоду перфузії, який тривав 60 хвилин, аспірований розчин збирали через кожні 20 хвилин впродовж 180 хвилин. Дані аналізу перфузату, отримані за кожний період, усереднювали і виражали у значенні на 20 хвилин.

Після закінчення експерименту щурів умертвляли шляхом введення подвійної дози наркозу.

Сегмент товстої кишки, через яку проводили перфузію, швидко видаляли, розрізали його в поздовжньому напрямку, обережно підсушували фільтровальним папером та кишки сушили в термостаті при 60°C впродовж 20 годин. Після чого сегмент зважували для отримання сухої ваги в грамах.

Визначення сумарних потоків води та іонів (Na⁺, K⁺, Cl⁻).

Сумарний потік води (J_{net}) визначали за допомогою неабсорбованого маркера фенолового червоного з розрахунку 20 мг/л. Концентрацію фенолового червоного визначали колориметрично на фотометрі КФК-3 при трьох довжинах хвиль l=520 нм, l=560 нм та l=600 нм для визначення поправки на неспецифічну абсорбцію (PRC) [7].

Перед вимірюванням на фотометрі для створення лужного середовища pH 9,5–10 та досягнення

максимальної інтенсивності забарвлення фенолового червоного до аспірованого розчину додавали аміак.

Концентрацію іонів Cl⁻ у перфузаті вимірювали на іонометрі (Иономер универсальный ЭВ-74) з використанням іон-селективного хлорного електроду, наповненого KCl концентрацією 10⁻³ та індиферентного електроду з ключем, наповненого KNO₃ (10⁻²). Перед вимірюванням концентрації іонів Cl⁻ аспірований розчин розводили в 10 разів. Іономір калібрували за допомогою розчинів, виготовлених з фіксаналів KCl (Україна), розведених у концентраціях 10⁻¹, 10⁻² та 10⁻³ та будували калібрувальну криву, за якою визначали концентрацію іонів Cl⁻.

Концентрації Na⁺ і K⁺ визначали на полум'яно-фотометричному аналізаторі рідин (ПАЖ-2) (Na⁺, K⁺), який визначає концентрації іонів за інтенсивністю забарвлення кольору полум'я горіння рідини. Перед вимірюванням концентрації Na⁺ і K⁺ аспірований розчин розводили у 600 та 20 разів відповідно, згідно методики вимірювання концентрацій іонів. Для побудови калібрувальної кривої, за якою визначали концентрації іонів у досліджуваних розчинах, використовували чотири розчини різних концентрацій (0,1; 0,2; 0,3 і 0,4-нормальні) NaCl для Na⁺ та відповідно KCl для K⁺.

Сумарний потік води та електролітів вираховували за наступними формулами:

$$J_{\text{net w}} = [F * (1 - C_F/C_A)] / W,$$

де J_{net w} – сумарний потік води (мкл/20хв г); F – швидкість подачі перфузату (мл/хв); C_F – концентрація фенолового червоного в перфузійному розчині; C_A – концентрація фенолового червоного в аспірованому розчині; W – суха вага сегменту кишки (г).

$$J_{\text{net ion}} = F (C_{\text{ion F}} - C_{\text{ion A}}) (C_{\text{PR F}}/C_{\text{PR A}}) / W,$$

де J_{net ion} – сумарний потік іонів (мкмоль/20хв г); F – швидкість подачі перфузату (мл/хв); C_{ion F} – концентрація іонів у перфузійному розчині; C_{ion A} – концентрація іонів в аспірованому розчині; C_{PR F} – концентрація фенолового червоного у перфузійному розчині; C_{PR A} – концентрація фенолового червоного в аспірованому розчині; W – суха вага сегменту кишки (г).

Абсолютні значення одержаних результатів із знаком плюс (позитивний результат) виражає процес всмоктування. І навпаки, абсолютні значення одержаних результатів із знаком мінус (негативний результат) виражає процес секреції.

Для кожної з вибірок перевіряли чи є нормальним розподіл досліджуваного показника, застосовуючи W тест Шапіро-Вілка. За цим критерієм було визначено, що якщо розподіл даних вибірок не відповідав розподілу Гауса, то для порівняння вибірок використовували непараметричний метод – ранговий критерій груп U-тест Мана-Вітні для порівняння

двох незалежних вибірок та тест Вілкоксона – для залежних. У цьому випадку Отримані дані представлені у вигляді Median;(25%...75%) [2].

За нормального розподілу досліджуваного показника значимість різниці показників оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Розраховували середнє значення (M) і стандартну похибку середнього (m).

Статистично значущою вважали різницю при $p < 0,05$ [1].

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті проведених досліджень встановлено, що у щурів контрольної групи всмоктування води (рис. 1), іонів натрію (рис. 2) і хлору (рис. 3) відбувалось на фоні секреції калію (рис. 4), що є нормальним фізіологічним процесом в товстій кишці і відповідає даним літератури щодо нет-абсорбції в товстій кишці без патологічних змін [21, 25].

В групі тварин, які упродовж 28-ми днів отримували омепразол, всмоктування води через епітелій товстої кишки зменшувалось на 44,1% ($p < 0,001$) у порівнянні з контрольною групою (рис. 1). Сумарний потік Na^+ через епітелій ободової кишки також був нижче контрольного показника на 53,3% ($p < 0,001$) (рис. 2).

Сумарний потік K^+ через епітелій ободової кишки змінював свій напрямок в сторону всмоктування і складав $0,46; (-0,46...1,50)$ мкмоль/г*хв, тобто всмоктування збільшувалось на 100% ($p < 0,001$) (рис. 3) у порівнянні з контролем.

Рівень всмоктування Cl^- через епітелій ободової кишки був більшим у порівнянні з контрольними значеннями на 32,7% ($p < 0,05$) (рис. 4).

Молекулярні механізми активного транспорту води, подібних до мембранного білку, який активно транспортує Na^+ ($Na^+, K^+ - AT$ Фаза) відсутні. Вода може переміщатися через епітелій кишечника або за градієнтом гідростатичного, або за градієнтом осмотичного тиску. Гідростатичний градієнт через епітелій кишечника дорівнює нулю, отже осмотичний градієнт є основним механізмом транспорту води [6].

Відомо, що всмоктування води в кишечнику відбувається пасивним шляхом за рахунок градієнту концентрації солей, який створюється парацелюлярним і транцелюлярним рухом іонів Na^+ , K^+ , Cl^- і HCO_3^- [19]. Основним механізмом розвитку діареї в кишечнику є збільшення електрогенної секреції іонів Cl^- через апікальні трансмембранні канали CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) епітеліальних клітин. CFTR – це білок, який виступає в якості Cl^- -селективного іонного каналу.

В клітинах крипт тонкої і товстої кишки, а також на ворсинках ентероцитів тонкого кишечника CFTR

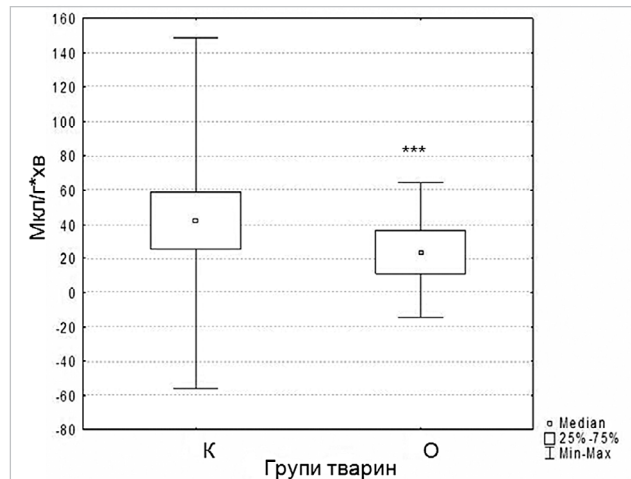


Рис. 1. Сумарний потік води через епітелій ободової кишки у щурів.

Примітка: К – контрольна група (n=5); О – після 28-ми днів введення омепразолу (n=5); *** $p < 0,001$ – відносно контролю.

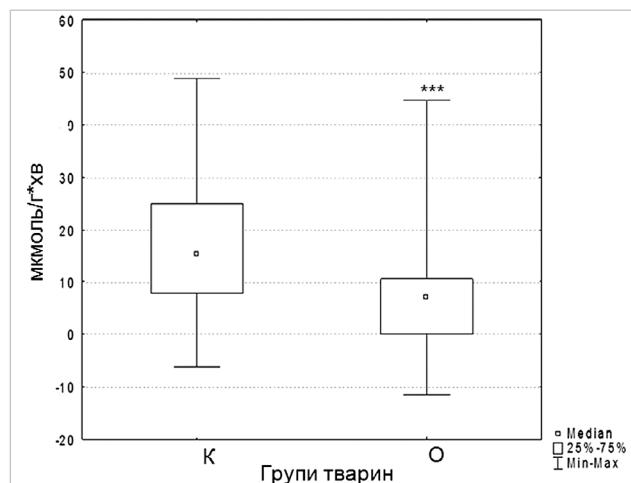


Рис. 2. Сумарний потік натрію через епітелій ободової кишки у щурів.

Примітка: К – контрольна група (n=5); О – після 28-ми днів введення омепразолу (n=5); *** $p < 0,001$ – відносно контролю.

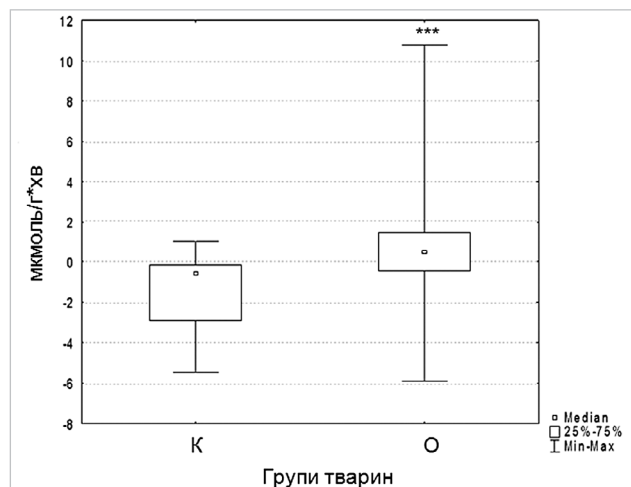


Рис. 3. Сумарний потік калію через епітелій ободової кишки у щурів.

Примітка: К – контрольна група (n=5); О – після 28-ми днів введення омепразолу (n=5); *** $p < 0,001$ – відносно контролю.

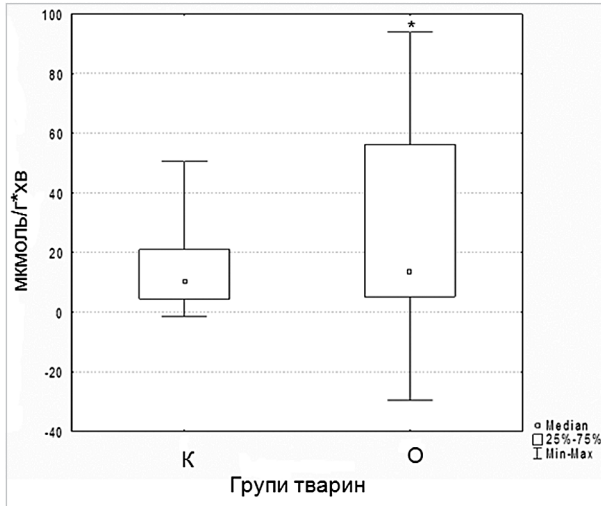


Рис. 4. Сумарний потік іонів хлору через епітелій ободової кишки у щурів.

Примітка: К – контрольна група (n=5);
 О – після 28-ми днів введення омепразолу (n=5);
 *p<0,05 – відносно контролю.

канали присутні на апікальній мембрані і на субапікальних рециркулюючих ендосомах. Підвищення концентрації цАМФ в цитозолі активує CFTR канали [8]. В дослідженнях на культурі клітин, а також мишах, нокаутованих за геном, який кодує протеїн CFTR, встановлений прямий зв'язок між рівнем експресії даного протеїну і секрецією Cl⁻ через епітелій кишечника і, відповідно, секреторною функцією епітелію [27]. І так, секреторний ефект води на фоні омепразол-викликаній гіпергастринемії може бути результатом активації CFTR каналів, або збільшення їх експресії. Гастрин опосередковує свій ефект на клітини через взаємодію з ССК-В рецепторами, експресія яких виявлена в епітеліальних

клітинах крипт слизової оболонки товстої кишки, де активація цих рецепторів приводить до збільшення проліферації клітин епітеліоцитів [18].

З літературних джерел відомо, що експресія CFTR каналів може служити маркером утворення пухлин, адже кількість цих каналів суттєво збільшується при карциномі ободової кишки і посиленні проліферації клітин епітелію [24].

В нашій роботі показано, що рівень проїну CFTR в слизовій оболонці ободової кишки щурів після 28-ми добового введення омепразолу збільшувався більше, ніж в 4 рази у порівнянні з контрольною групою щурів (рис. 5).

Цікавим виявився ефект 28-ми денного введення омепразолу на транспорт іонів Cl⁻. На фоні збільшення експресії CFTR каналів ми повинні були очікувати збільшення секреції Cl⁻, а побачили, навпаки, збільшення всмоктування Cl⁻ і K⁺ при зменшенні всмоктування Na⁺ і води. В літературі зустрічаються дані про те, що CFTR є інгібіторами електрогенного і електронейтрального всмоктування Na⁺ через ENaC і NHE3 канали [20] і, відповідно, вони пригнічують всмоктування води через епітелій, що ми і побачили в нашому дослідженні. При цьому, CFTR канали можуть активувати Cl⁻/HCO₃⁻ обмінники, які відповідають за секрецію HCO₃⁻ і всмоктування Cl⁻ через апікальні мембрани колоноцитів. Таким чином, гіпергастринемія, як ми бачимо, не лише збільшує експресію CFTR каналів в епітелії ободової кишки, але і може опосередковано через CFTR активувати інші іонні обмінники, які дають в результаті ті зміни, які ми бачили в своїх дослідженнях. Можливо, цей ефект є захисною реакцією проти негативних змін у функціонуванні ободової кишки, які викликаються тривалим введенням омепразолу і, очевидно, омепразол-індукованою гіпергастринемією. Адже відомо, що гіпоацидність шлункового соку приводить до розвитку дисбактеріозу у всіх біотопах травного тракту, в тому числі і ободової кишки. Продукти метаболізму умовно-патогенної флори (індол, скатол, сірководень і ін.) та токсини знижують детоксикаційну функцію печінки, пригнічують перистальтику і зумовлюють розвиток диспепсичного синдрому. Ці явища приводять до застою слизу і вмісту кишечника в порожнині, а також сприяють проникненню патогенної мікрофлори в тверду фазу слизової оболонки. Цим же процесам сприяє також і зменшення моторної активності ободової кишки, яке ми спостерігали на фоні тривалої гіпоацидності шлункового соку, спричиненої омепразолом.

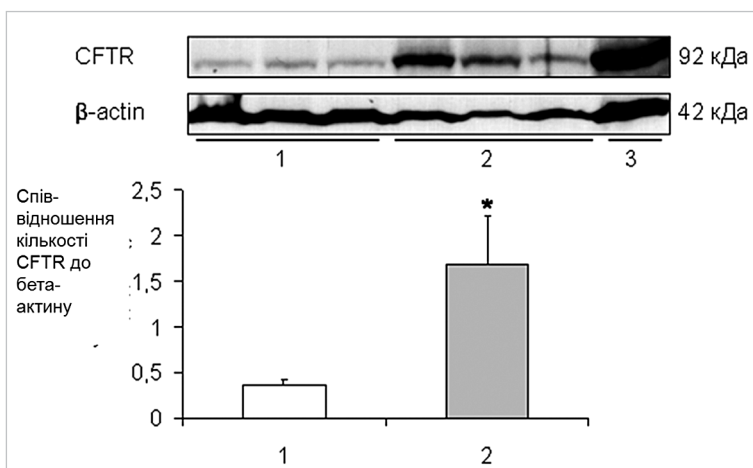


Рис. 5. Результати Вестерн-блот аналізу рівня протеїну CFTR (у. о.) в слизовій оболонці ободової кишки щурів.

Примітка: 1 – контроль, 2 – після 28-ми добового введення омепразолу, 3 – в якості позитивного контролю експресії CFTR використовувались легені щурів, (M±m, n=5 в кожній групі); * – p<0,05 відносно показників контрольної групи.

Ми вважаємо, що збільшення рівня протеїну CFTR пов'язано зі збільшенням проліферації клітин в зоні крипт слизової оболонки ободової кишки в умовах тривалої гіпергастринемії. Такий висновок підтверджується морфологічними дослідженнями слизової оболонки товстої кишки за аналогічних умов введення омепразолу [3]. Дослідження морфологічних показників в даній групі тварин виявило ознаки легкої та помірної дисплазії, що проявлялося в статистично достовірному збільшенні ширини слизової оболонки і глибини крипт.

З іншої сторони, підвищення експресії CFTR каналів і, як наслідок, збільшення секреції води, може бути результатом компенсаторної відповіді організму на підвищення рН, яке спостерігається на фоні тривалого введення омепразолу. Адже, секреція хлору і слизу є основним механізмом підтримання гомеостазу ентероцитів і створення захисного бар'єру слизової оболонки кишечника [10]. При таких умовах відбувається активація захисних механізмів, які включають в себе підвищення експресії CFTR каналів, збільшення секреції води і слизу для забезпечення виштовхування патогенної мікрофлори зі слизової оболонки кишки та видалення її з порожнини назовні.

Висновки.

1. 28-ми денне введення щурам омепразолу приводило до того, що у порівнянні з контролем всмоктування води через епітелій товстої кишки зменшувалось на 44,1% ($p < 0,001$), сумарний потік Na^+ через епітелій ободової кишки зменшувався на 53,3% ($p < 0,001$), сумарний потік K^+ через епітелій ободової кишки змінював свій напрямок в сторону всмоктування і воно збільшувалось в 2 рази. Рівень всмоктування Cl^- через епітелій ободової кишки був більшим, у порівнянні з контрольними значеннями на 32,7% ($p < 0,05$).
2. Рівень протеїну CFTR в слизовій оболонці ободової кишки щурів після 28-ми добового введення омепразолу збільшувався більше, ніж в 4 рази у порівнянні з контрольною групою щурів.
3. Зниження скоротливої активності гладеньких м'язів ободової кишки і послаблення її моторики на фоні тривалої гіпергастринемії супроводжується включенням захисних механізмів, які включають в себе посилення експресії CFTR каналів і збільшення секреції води.

Перспективою подальших досліджень у цьому напрямку є дослідження транспорту води і електролітів через епітелій ободової кишки та експресії CFTR каналів у щурів після одночасного введення впродовж 28-ми днів омепразолу та мультипробіотика Симбітер®.

References

1. Brandt Z. Statisticheskiye metody analiza nablyudeniy. M.: Mir; 1975. 312 s.
2. Glants G. Mediko-biologicheskaya statistika. M.: Praktika; 1999. 459 s.
3. Gurlenko TM, Voronina OK, Grishchuk VM, Tolstanova GM, Dzerzhinskii ME, Beregova TV. Zmíni funktsionuvannya transportnoї sistemi yepíteliyu ta morfologíchnikh pokaznikív slizovoї obolonki obodovoї kishki shchurív z gípergastri-nemiéyu ríznóї trivalostí. Fízíologíchniy zhurnal. 2007;53(3):23–30.
4. Dovbinchuk TV, Tyapko OP, Linchak OV, Tolstanova GM. Mekhanízm tseftríakson-viklikanogo porushennya transportu vodi ta yelektrolítiv cherez yepítelý tovstoї kishki shchurív. Materiali IX Mízhnarodnoї konferentsiї studentív ta aspirántív, priurochena do 150-ríchchya víd dnya narodzhennya akademíka V. Vernads'kogo «Molod' í postup biológíj». L'viv, 16–19 kvítnya 2013. S. 411.
5. Moroz VM, Lipnitskiy TN, Kozlovskiy VA. Eksperimental'naya model' kal'tsiyavisimykh aritmiy serdtsa. Ukr. kardíol. zhurn. 2006. Available from: www.rgl.kiev.ua/cardio_j/2006/4/moroz.htm.
6. Khenderson DzhM. Patofiziologiya organov pishchevareniya. 2-ye izd.: Per. s angl. M–SPb.: BINOM «Nevskiy dialekt»; 1999. 292 c.
7. Allen W.M. A simple method for analyzing complicated absorption curves of use in colorimetric determination of urinary steroids. J Clin Endocrinol. 1950;10:71–83.
8. Barrett KE, Keely SJ. Chloride secretion by the intestinal epithelium: molecular basis and regulatory aspects. Annu Rev Physiol. 2000;62:535–72.
9. Bharucha AE, Phillips SF. Slow transit constipation. Gastroenterol Clin North Am. 2001;30(1):77–95.
10. Blikslager AT, Roberts MC, Argenzio RA. Prostaglandin-induced recovery of barrier function in porcine ileum is triggered by chloride secretion. Am J Physiol. 1999;276:28–36.
11. Burkitt MD, Varro A, Pritchard DM. Importance of gastrin in pathogenesis and treatment of gastric tumors. World J Gastroenterol. 2009;15(1):1–16.
12. Nonaka Takashi, Kessoku Takaomi, Ogawa Yuji, Imajyo Kento, Yanagisawa Shogo, Shiba Tadahiko, Sakaguchi Takashi, et al. Effects of Histamine-2 Receptor Antagonists and Proton Pump Inhibitors on the Rate of Gastric Emptying: A Crossover Study Using a Continuous Real-Time 13C Breath Test (BreathID System). J Neurogastroenterol Motil. 2011;17(3):287–93.
13. Friis-Hansen L. Achlorhydria is associated with gastric microbial overgrowth and development of cancer: lessons learned from the gastrin knockout mouse. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 2006;66: 607–22.

14. Grundy D, Al-Chaer ED, Aziz Q, Collins SM, Ke M, Taché Y, Wood JD. Fundamentals of neurogastroenterology: Basic science. *Gastroenterology*. 2006;130:1391–411.
15. Evans Carlton AW, Gilman Robert H, Rabbani GH, Salazar Guillermo, Ali Akbar. Gastric acid secretion and enteric infection in Bangladesh. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1997;91:681–5.
16. Biolato Marco, Alfieri Sergio, Ianiro Gianluca, Pizzoferrato Marco, Gasbarrini Giovanni. Gastric non-secreting neuroendocrine tumor and hypochlorhydria-related hypergastrinemia: a case report. *Med Case Rep*. 2013;22:53–6.
17. Jalving M, Koornstra JJ, Wesseling J, Boezen HM, DE Jong S, Kleibeuker JH. Increased risk of fundic gland polyps during long-term proton pump inhibitor therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;24(9):1341–8.
18. Jin G. Inactivating cholecystokinin-2 receptor inhibits progastrin-dependent colonic crypt fission, proliferation, and colorectal cancer in mice. *J Clin Invest*. 2009;119(9):2691–701.
19. Kato A, Romero MF. Regulation of electroneutral NaCl absorption by the small intestine. *Annu Rev Physiol*. 2011;73:261–81.
20. Mall M. CFTR-mediated inhibition of amiloride sensitive sodium conductance by CFTR in human colon is defective in cystic fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 1999;277:709–16.
21. Greger R, Bleich M, Leipziger J, Ecke D, Mall M, Kunzelmann K. Regulation of ion transport in colonic crypts. *News Physiol Sci*. 1997;12:62–6.
22. Tazoe H, Otomo Y, Kaji I, Tanaka R, Karaki SI, Kuwahara A. Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR41 and GPR43 on colonic functions. *J Physiol Pharmacol*. 2008;59:251–62.
23. Sladen GE, Harries JT. Studies on the effects of unconjugated dihydroxy bile salts on rat small intestinal function in vivo. *Biochem Biophys Acta*. 1972;288:443–56.
24. Sood R. Regulation of CFTR expression and function during differentiation of intestinal epithelial cells. *EMBO J*. 1992;11:2487–94.
25. Spring KR. Routes and mechanism of fluid transport by epithelia / K.R. Spring. *Annu Rev Physiol*. 1998;60:105–19.
26. Tougas G, Earnest DL, Chen Y. Omeprazole delays gastric emptying in healthy volunteers: an effect prevented by tegaserod. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005;22:59–65.
27. Zheng W. Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1)-mediated repression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) in the intestinal epithelium. *FASEB J*. 2009;23(1):204–13.

УДК 612.337-047.37

ТРАНСПОРТ ВОДЫ И ЭЛЕКТРОЛИТОВ ЧЕРЕЗ ЭПИТЕЛИЙ ОБОДОЧНОЙ КИШКИ И ЭКСПРЕССИЯ CFTR КАНАЛОВ У КРЫС ПОСЛЕ 28-МИ ДНЕЙ ВВЕДЕНИЯ ОМЕПРАЗОЛА
Пилипенко С. В.

Резюме. В статье изложены данные о результатах исследования влияния длительной желудочной гипохлоридрии на транспорт воды и электролитов через эпителий ободочной кишки и экспрессии CFTR каналов у крыс. Установлено, что снижение сократительной активности гладких мышц ободочной кишки на фоне гипергастринемии и дисбактериоза сопровождается включением защитных механизмов, которые включают в себя усиление экспрессии CFTR каналов и увеличение секреции воды. То есть, развитие диареи на фоне длительного угнетения секреции гидрохлоридной кислоты в желудке не является следствием изменений в моторике пищеварительного тракта, а обусловлено нарушением транспорта воды и электролитов через эпителий толстой кишки.

Ключевые слова: гипохлоридрия; гипергастринемия; дисбактериоз; CFTR каналы; моторика.

UDC 612.337-047.37

TRANSPORT OF WATER AND ELECTROLYTES THROUGH EPITHELIUM OF COLON AND EXPRESSION CFTR OF CANALS IN RATS AFTER 28-DAY INTAKE OF OMEPRAZOLE
Pylypenko S.

Abstract. Materials and methods. Examinations were done on white nonlinear rats with initial body weight 160–180 gr. They were divided into two groups. Each group contained 12 animals in each one. Control group presents rats of the first group and they were taken intraperitoneally 0,5 ml water for injection during 28 days. Omeprazole (Sigma-Aldrich» USA) was taken by rats of the second group intraperitoneally once a day during 28 days. The dosage was 14 mg/kg, and it was dissolved in 0,2 ml of water for injections.

Water transport examination through epithelium of colon was done by perfusion of isolated region of intestine in rats of the first and the second groups in vivo under urethane anesthesia with unabsorbed marker such as phenol red (n=12). Concentration of ions Cl⁻ in perfusate was measured on ionomer with ion-selective chloride electrode. Concentration measurement Na⁺ and K⁺ was done by flame-photometric analyzer of liquids that

determines ions concentration by intensity of color dying of flame of liquid burning. Expression of protein CFTR was determined by Western blotting technique in rats of the first and the second groups (n=12).

Results. It was determined that in rats of control group water, ions and chloride absorption was done based on potassium secretion that is normal physiological process in colon and corresponds to data of literature of unabsorption in colon without pathological changes.

Group of animals who received omeprazole during 28 days water absorption through epithelium of colon decreased on 44,1% ($p < 0,001$) in comparison with control one. Total volume Na^+ through epithelium of colon also was lower of control index on 53,3% ($p < 0,001$). Total volume K^+ through epithelium of colon changed its direction in absorption and contained 0,46;(-0,46...1,50) $\text{mcM}\backslash\text{g} \cdot \text{min}$ so absorption increased on 100% ($p < 0,001$) (picture 3.13) in comparison with control one.

The level of absorption Cl^- through epithelium of colon was higher in comparison with control indices on 32,7% ($p < 0,05$).

It was determined that the level of CFTR protein in the mucous membrane of colon of rats after 28 day of omeprazole intake increased in 4 times in comparison with control group of rats.

It is known hypoacidity of gastric juice causes dysbacteriosis development in all biotopes of digestive tract and also of colon. Products of metabolism of conditionally pathogenic of flora (indole, skatole, hydrogen sulphide and others) and toxins decrease detoxification function of liver, inhibit vermicular movement and cause the development of dyspeptic syndrome. These phenomena cause mucus congestion and content in intestine in cavity and also assist in penetration of pathogenic microflora in solid phase of mucous membrane. It also assists in reducing of motor activity of colon which was observed by us due to long-lasting hypoacidity of gastric juice which was caused omeprazole.

It has been established increase of the level of CFTR protein is associated with increase of cell proliferation in ones of crypt of mucous membrane of colon in long-lasting hypergastrinemia. It is confirmed by morphological examinations of mucous membrane of colon. Examinations of morphological indices in this group determined the signs of mild dysplasia that was manifested in statistically accurate increase of mucous membrane and the depth of crypts.

But, increase of expression of CFTR canals as a consequence increase of water secretion and it can be a result of compensatory response of an organism on pH, increase which can be observed due to long-lasting omeprazole. So, secretion of chloride and mucus is the main mechanism of homeostasis of enterocytes and creates protective barrier of mucous membrane of intestine. In such way there is an activation of protective mechanisms which include the increase of expression of CFTR canals, increase of water and mucus secretion to provide expulsion of pathogenic microflora from mucous membrane of colon and removal from the cavity.

Conclusions. 28-day intake of omeprazole caused water absorption through epithelium of colon in comparison with control group decreased on 44,1% ($p < 0,001$), total volume Na^+ through epithelium of colon (segmented intestine) decreased on 53,3% ($p < 0,001$), total volume K^+ through epithelium of colon changed its direction into absorption and it increased in 2 times. The level of Cl^- absorption through epithelium of colon was larger in comparison with control indices on 32,7% ($p < 0,05$). The level of CFTR protein in mucous membrane of colon of rats after 28-day intake of omeprazole increased in 4 times in comparison with control group of rats. The decrease of contractile activity of smooth muscles of colon and reduction of its motor activity based on long-lasting hypergastrinemia is accompanied with inclusion of protective mechanisms which include expression intensification of CFTR canals and increase of water secretion.

Prospects for further research deal with examination of water and electrolytes transport through epithelium of colon and expression CFTR canals in rats after simultaneous intake of omeprazole and multiprobitics Sym-biter[®] during 28 days.

Keywords: hypochlorhydria; hypergastrinemia; dysbacteriosis; CFTR canals; motor activity.

Стаття надійшла 11.04.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування