

PARTICULARITĂȚILE HIDROLIZEI MEMBRANARE ȘI A ABSORBȚIEI GLUCIDELOR ÎN INTESTINUL SUBȚIRE LA ȘOBOLANII ALBI ÎN FUNCȚIE DE STRESOREACTIVITATEA CONSTITUȚIONALĂ

Grosul-Raileanu Olesia, Șeptițchi Vladimir, Leorda Ana

*Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie, Universitatea de Stat din
Moldova, Chișinău, Republica Moldova, raileanu.radu@yandex.com*

Abstract. *The aim of this work is to clarify the features of membrane hydrolysis of maltose and the absorption of glucose formed during hydrolysis, as well as free glucose and fructose in the small intestine of rats with different levels of constitutional stress reactivity. Significant differences in the intensity of free glucose and fructose absorption, membrane hydrolysis of maltose and absorption of glucose formed during hydrolysis were found in rats with different levels of constitutional stress reactivity. The highest rate of free glucose absorption is observed in animals with an average level of stress reactivity, and fructose - in animals with a low level of reactivity; the lowest rate of free monosaccharide absorption is observed in animals with high stress reactivity. Animals with an average level of constitutional reactivity have a higher intensity of membrane hydrolysis of maltose and glucose formed during hydrolysis compared to animals with high stress reactivity. The obtained data indicate the existence of a connection between the genetically determined stress reactivity of the body and the digestive-transport function of the small intestine.*

Key words. *Small intestine, membrane hydrolysis of maltose, glucose absorption, fructose absorption, constitutional stress reactivity.*

Introducere

Pentru dezvoltarea sistemului de nutriție sanogenă [19, 20], care prevede, în particular, individualizarea rației alimentare și rezolvarea problemelor unei abordări individuale, privind prevenirea și corecția tulburărilor digestive, este important de a identifica particularitățile constituționale ale funcționării sistemului digestiv. Este cunoscut faptul, că fiecare tip de constituție are propriul său tip de stresoreactivitate al organismului determinat ereditar [3, 15]. Pe acest fapt este bazată metodologia de împărțire a animalelor experimentale în tipuri de constituție, corespunzătoare unui anumit nivel de stresoreactivitate, care a fost utilizată în această lucrare. În ultimele decenii, s-au înregistrat

progrese semnificative în studierea legăturii dintre nivelul de stresoreactivitate și reflectarea acestuia în procesele, care au loc în sistemul nervos. Un rezultat important al acestor studii a fost stabilirea faptului, că nivelul de reactivitate al organismului determinat ereditar este un factor, care determină riscul de dezvoltare și particularitățile evoluției tulburărilor anxioase-depresive induse de stres [12, 15]. Cu toate acestea, problema influenței nivelului de stresoreactivitate asupra funcționării sistemelor și organelor viscerale, în special a intestinului subțire, care joacă un rol important în metabolismul general al nutrienților și protecția împotriva antigenelor, rămâne puțin studiată.

O serie de studii au arătat relația dintre apartenența unei persoane la unul sau altul tip de bază al constituției fenotipice (ectomorf, mezomorf sau endomorf) și expresia genelor, care codifică enzimele metabolice, indicatorii biochimici ai metabolismului, comportamentul alimentar, dimensiunea organelor sistemului digestiv, indicatorii structurali ai intestinului, nivelul sintezei unor hormoni intestinali, predispoziția la anumite boli ale organelor digestive [1, 2, 5, 7-9]. În același timp, particularitățile constituționale ale proceselor digestive și de transport în intestinul subțire au fost studiate extrem de insuficient, iar în prezent nu există practic nicio înțelegere a caracteristicilor digestiei și absorbției nutrienților în funcție de tipul de constituție. Câteva studii indică unele trăsături structurale și funcționale ale intestinului la animale model și la oameni cu diferite niveluri de stresoreactivitate constituțională, corespunzătoare unui anumit tip de constituție [1, 7, 14, 16]. Cercetările anterioare realizate în Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie au demonstrat dependența activității enzimelor amilolitice și proteolitice ale intestinului subțire de tipul de stresoreactivitate constituțională [4, 11, 17, 21]. Particularitățile hidrolizei membranare și absorbției glucidelor în intestinul subțire la reprezentanții diferitelor tipuri de constituție au fost foarte puțin studiate. Există dovezi, că viteza de absorbție a glucozei libere la șobolani cu niveluri ridicate și scăzute de reactivitate, determinată genetic, diferă semnificativ [14].

Scopul acestei lucrări este de a elucida particularitățile hidrolizei membranare a maltozei și absorbției glucozei, formată în timpul hidrolizei, precum și ale absorbției glucozei și fructozei libere în intestinul subțire al șobolanilor albi cu diferite niveluri de stresoreactivitate constituțională.

Materiale și metode

Studiile au fost efectuate pe șobolani masculi Wistar cu o greutate de 180-220 g, întreținuți în condiții de vivariu cu o dietă standard cu acces liber la hrană și apă. Șobolanii au fost împărțiți în trei grupuri în funcție de nivelul de stresoreactivitate constituțională:

1. stresoreactivitate ridicată (SRR);
2. nivel mediu de stresoreactivitate (SRM);
3. stresoreactivitate scăzută (SRS).

Stresoreactivitatea constituțională a fost evaluată, folosind un set de teste comportamentale și analiza diferențelor histopatologice în țesuturile stomacului, timusului și glandelor suprarenale la o parte de animale din fiecare grup după stresul de imobilizare. În calitate de teste comportamentale au fost utilizate cele mai adecvate modele, care oferă o evaluare obiectivă –testele „înot forțat” și „insula de apă”.

Pentru a studia procesele de hidroliză membranară și absorbție, șobolanii au fost operați preliminar sub anestezie Nembutal folosind metoda Thiri-Well modificată de A.M. Ugolev și al. [18]. După deschiderea cavității abdominale, un segment al părții proximale a intestinului subțire de aproximativ 20 cm lungime a fost izolat la o distanță de 15 cm distal de duoden. Fistulele tubulare metalice (titan sau duraluminiu) au fost introduse în ambele capete ale ansei izolate, folosind o metodă specială de fixare. Perfuzia a fost efectuată folosind o pompă peristaltică cu multe canale „Zalimp” (Polonia), oferind o viteză de perfuzie stabilă, apropiată de cea fiziologică (aproximativ 0,5 ml/min). Soluția, care intră în segmentul intestinului subțire a fost preîncălzită la 38°C. Pentru perfuzia secțiunii izolate a intestinului subțire s-au folosit soluții de maltoză cu concentrații inițiale ale substratului de 12,5; 25; 37,5 mM, de glucoză liberă sau fructoză cu concentrații de 25; 50 și 75 mM. Substraturile au fost preparate în baza soluției Ringer (pH 7,4), astfel încât osmoticitatea soluției de perfuzie să fie de aproximativ 300 mOsm [13]. Pentru a studia cinetica hidrolizei membranare și absorbției, s-a efectuat perfuzia experimentală a segmentului izolat al intestinului subțire cu soluții cu diferite concentrații ale substratului la un moment al zilei strict definit. Concentrația glucozei în soluțiile de perfuzie a fost determinată cu ajutorul truselor „Bio-Test” (Republica Cehă), fructozei – folosind metoda colorimetrică arsenic-molibden, iar pentru determinarea concentrației totale de maltoză și glucoză s-a folosit metoda cu reactivul antron.

Datele obținute au fost prelucrate statistic prin ANOVA folosind testul t-Student.

Rezultate și discuții

Analiza datelor obținute în urma studiului cineticii absorbției monozaharidelor la cele trei concentrații inițiale ale acestora în cavitatea secțiunii izolate a intestinului subțire denotă, că intensitatea absorbției glucozei și fructozei libere depinde de tipul de stresoreactivitate constituțional al organismului (Tab.1.).

Tabelul 1. Viteza absorbției glucozei și fructozei ($\mu\text{mol/min}$) la diferitele lor concentrații inițiale în soluția de perfuzie (25, 50 și 75 mM) la șobolani cu diferite niveluri de stresoreactivitate constituțională

Loturi de șobolani	Viteza absorbției					
	glucoza			fructoza		
	25	50	75	25	50	75
SRR	8,92 $\pm$ 0,65	14,23 $\pm$ 0,82	15,95 $\pm$ 0,78	1,83 $\pm$ 0,11	3,37 $\pm$ 0,25	4,52 $\pm$ 0,45
SRM	12,18 $\pm$ 0,79*	18,82 $\pm$ 1,07*	22,28 $\pm$ 1,31*	2,01 $\pm$ 0,19	4,18 $\pm$ 0,32*	5,98 $\pm$ 0,28*
SRS	10,41 $\pm$ 0,83**	16,27 $\pm$ 0,93	19,10 $\pm$ 1,18*	2,92 $\pm$ 0,15*,**	6,03 $\pm$ 0,23*,**	8,76 $\pm$ 0,68*,**

Notă: * – diferențe semnificative SRM și SRS, comparativ cu SRR,

** – diferențe semnificative între SRM și SRS ($P < 0,01-0,05$).

După cum se poate observa din datele studiului prezentate în tabel, cea mai mare viteză de absorbție a glucozei se observă la animalele cu stresoreactivitate medie, iar cea mai scăzută – la animalele cu stresoreactivitate ridicată. La șobolani cu SRS, nivelul de absorbție al glucozei este mai mare decât la șobolani cu SRR și mai mic decât la șobolani cu SRM, cu toate acestea, în acest caz, diferențele nu sunt întotdeauna semnificative. În cazul monozaharidei glucoză, concentrația inițială a substratului în soluția de perfuzie nu are o mare influență asupra gradului de diferență a absorbției în funcție de nivelul de reactivitate al organismului animalului. Viteza de absorbție la șobolani cu SRM este cu 36,5-39,6% mai mare, decât la animalele cu SRR și cu 14,3-18,7% decât la animalele cu SRS.

Spre deosebire de glucoză, cea mai mare viteză de absorbție a fructozei se observă la șobolani cu SRS, la care este cu 59,6-93,8% mai mare, decât la animalele cu SRR și cu 9,8-32,3% mai mare, decât la animalele cu SRM în funcție de concentrația inițială de fructoză din soluția de perfuzie. Se observă diferențe semnificative în viteza de

absorbție a fructozei și între grupurile de animale cu SRM și SRS. La șobolanii cu SRS, viteza de absorbție a fructozei este mai mare, decât la animalele cu SRM cu 44,2-46,8%. Trebuie remarcat faptul că, spre deosebire de glucoză, gradul de diferență a absorbției la animalele cu nivel diferit de reactivitate depinde de concentrația substratului în cavitatea secțiunii izolate a intestinului subțire. Astfel, dacă la o concentrație inițială de fructoză de 25 mM, viteza de absorbție a acesteia diferă practic puțin la animalele cu SRR și SRM, în timp ce la o concentrație de fructoză de 50 mM este mai mare la animalele cu SRM cu aproape un sfert, iar la concentrația fructozei de 75 mM – aproape cu o treime. O imagine similară este observată atunci când se compară animalele cu SRR și SRS. Diferențele în viteza de absorbție a glucozei la animalele din aceste grupuri sporesc pe măsură ce crește concentrația de fructoză din soluția de perfuzie.

Astfel, probabil, particularitățile sistemului de transport și a mecanismului de absorbție a monozaharidei prin membrana apicală a celulei intestinale afectează intensitatea transportului său intestinal la reprezentanții cu diverse tipuri de constituție. După cum se știe, glucoza este absorbită prin membrana apicală a enterocitelor folosind transportul activ secundar dependent de Na^+ , mediat de proteina de transport SGLT1, precum și prin difuzie facilitată cu participarea transportorului GLUT2 [6], iar fructoza este transportată prin membrana marginii „în perie” folosind mecanismul transportorului de difuzie facilitată GLUT5; transportorul GLUT2 de asemenea joacă un rol determinat în transportul fructozei prin membrana apicală a celulei intestinale [10]. Un anumit rol în absorbția monozaharidelor din cavitatea intestinală în mediul intern al organismului îl joacă și transportul paracelular [6].

La studierea cineticii hidrolizei membranare a maltozei și a absorbției glucozei formate în timpul hidrolizei membranare la trei concentrații inițiale de maltoză în cavitatea secțiunii izolate a intestinului subțire, s-a constatat că intensitatea atât a proceselor digestive, cât și a celor de transport este mai mare la șobolani cu SRM, comparativ cu animalele cu SRR (Fig.1.).

Viteza mai mare de hidroliză membranară a maltozei la animalele cu un nivel mediu de stresoreactivitate corespunde datelor pe care le-am obținut anterior cu privire la activitatea maltazei în mucoasa intestinului subțire la șobolani cu niveluri diferite de stresoreactivitate constituțională [4, 11] și este, de asemenea, în concordanță cu datele altor autori [16]. Se poate presupune, că creșterea activității maltazei în compartimentele

intestinului subțire al șobolanilor cu SRR se poate datora faptului, că aceasta permite să nu fie limitată absorbția mai sporită a glucozei în partea corespunzătoare a intestinului, ceea ce probabil joacă un rol important în menținerea homeostaziei glucozei în organism.

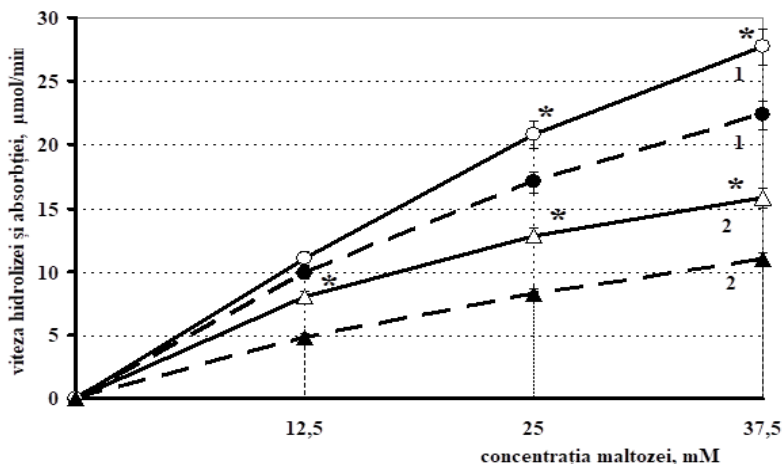


Figura 1. Hidroliza membranară a maltozei și absorbția glucozei rezultate la animale cu diferite niveluri de stresoreactivitate constituțională. Linii continue – SRM, linii punctate – SRR. 1 – viteza de hidroliză a maltozei, 2 – viteza de transport a glucozei. * - diferențe semnificative între SRR și SRM ($P<0,05$).

Concluzii

1. Au fost depistat diferențe semnificative în intensitatea absorbției glucozei și fructozei libere, în hidroliza membranară a maltozei și absorbția glucozei, formată în timpul hidrolizei în intestinul subțire la șobolani cu niveluri diferite de stresoreactivitate constituțională, ceea ce demonstrează prezența unei legături între reactivitatea a organismului, determinată genetic și funcția de digestie și transport a intestinului subțire.

2. Cea mai mare viteză de absorbție a glucozei libere se observă la animalele cu un nivel mediu de stresoreactivitate constituțională, iar a fructozei - la animalele cu un nivel scăzut de reactivitate; cea mai scăzută viteză de absorbție a monozaharidelor libere se observă la animalele cu stresoreactivitate ridicată.

3. La animalele cu un nivel mediu de reactivitate constituțională se observă o intensitate mai mare a hidrolizei membranare a maltozei și glucozei, comparativ cu animalele cu stresoeactivitate ridicată.

4. Concentrația maltozei și fructozei în cavitatea unei secțiuni izolate a intestinului subțire afectează nivelul diferențelor de intensitate a hidrolizei membranare a maltozei și, respectiv, absorbția fructozei libere la animalele cu niveluri diferite de stresoeactivitate, în timp ce concentrația de glucoză și maltoză în intestinul subțire practic nu influențează amploarea diferențelor în viteza de absorbție a glucozei libere și, respectiv, celei formate în timpul hidrolizei membranare dintre animalele cu niveluri diferite de stresoeactivitate a organismului.

5. Datele obținute confirmă ideile despre particularitățile esențiale ale proceselor digestive și de transport în intestinul subțire la reprezentanții cu diferite tipuri de constituție, care trebuie luate în considerare la elaborarea alimentației sanogene, individualizarea abordărilor de prevenire și corectare a tulburărilor activității organelor digestive.

Bibliografie

1. Baek T.H., Choi J.R., Park S.S. A correlation research of digestion according to Sasang constitution. In: *Journal of Sasang Constitutional Medicine*. 2004, nr. 16, p. 112–119.

2. Baek T.H., Park S.S. A correlation research of appetite and dining habits according to Sasang constitution. In: *Journal of Korean Oriental Medicine*. 2004, vol. 25, p. 77–86.

3. Bibbey A., Carroll D., Roseboom T.J. Constitutional and behavioural correlates of individual differences in biological stress reactivity In: *J Psychophysiol*, 2013, vol. 90, p. 28-36.

4. Grosul-Raileanu O., Sheptitsky V. Activity of digestive enzymes of the small intestine of rats with different constitutional stress reactivity. In: *National conference with international participation: Life sciences in the dialogue of generations: connections between universities, academia and business community*. Chisinau, 2022, p. 132.

5. Hotoleanu C., Popp R., Trifa A.P. et al. Genetic determination of irritable bowel syndrome. In: *World J. Gastroenterol*. 2008. vol. 14. nr. 4. p. 6636-6640.

6. Karasov W.H. Integrative physiology of transcellular and paracellular intestinal absorption. In: *J. Exp. Biol*. 2017, vol. 220, nr. Pt 14, p. 2495-2501.

7. Lee J., Han S.Y., Hwang M. et al. Biopsychological and pathophysiological features of Cold-Heat subgroup of Sasang typology with Sasang Digestive Function Inventory, Sasang Personality Questionnaire and Body Mass Index. In: *Integr Med Res*. 2018, vol. 7, nr. 1, p. 68-76.

8. Lee J., Shin H., Kim K.-S. Suggestion of new possibilities in approaching individual variability in appetite through constitutional typology: a pilot study. In: *BMC Complement Altern. Med.* 2012. nr. 12. p. 122.
9. Park S., Rew J., Lee S. et al. Association of CCK(1) Receptor Gene Polymorphisms and Irritable Bowel Syndrome in Korean. In: *J. Neurogastroenterol. Motil.* 2010. vol.16. nr. 1. p. 71–76.
10. Patel C., Douard V., Yu S. et al. Transport, metabolism, and endosomal trafficking-dependent regulation of intestinal fructose absorption. In: *FASEB J.* 2015, vol. 29, nr. 9, p. 4046-4058.
11. Şeptiţchi V., Grosul-Raileanu O., Leorda A. Activity of carbohydrases and proteases of the mucous membrane of the small intestine of albino rats with different levels of constitutional stress reactivity. *Integrare prin Cercetare şi Inovare: conferinţa ştiinţifică naţională cu participare internaţională. Rezumatele comunicărilor. Ştiinţe ale Naturii şi exacte, Chişinău, 2022, p. 109-111.*
12. Вайдо А.И., Ширяева Н.В., Павлова М.Б. и др. Селектированные линии крыс с высоким и низким порогом возбудимости: модель для изучения дезадаптивных состояний, зависящих от уровня возбудимости нервной системы. В: *Лабораторные животные для научных исследований*, 2018, № 3, с. 12-22.
13. Громова Л.В., Груздков А.Л.А., Груздков А.А. Кинетические параметры гидролиза мальтозы и всасывания глюкозы в тонкой кишке крыс в хронических опытах. В: *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*, 2002, Т. 88, № 4, с. 510-518.
14. Груздков А.А., Дмитриева Ю.В., Алексеева А.С. и др. Оценка уровня всасывания глюкозы в тонкой кишке крыс различных линий в естественных условиях. В: *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, 2018, т. 54, № 4, с. 271–277.
15. Дюжикова Н.А., Даев Е.В. Геном и стресс-реакция у животных и человека. В: *Экологическая генетика*, 2018, т. 16, № 1, с. 4-26.
16. Савочкина Е.В., Дмитриева Ю.В., Павлова М.Б. и др. Структурные и функциональные параметры кишечника у крыс с различной возбудимостью нервной системы. В: *Интегративная физиология*, 2022, Том 3, № 1, с. 110-117.
17. Струтинский Ф.А., Шептицкий В.А., Золоторева Г.В. и др. Влияние рационов для астеника на активность протеолитических ферментов тонкого кишечника. В: *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2017, т. 27, № 5, Приложение № 50, с. 34.
18. Уголев А.М., Зарипов Б.З., Иезуитова Н.Н. и др. Особенности мембранного гидролиза и транспорта в тонкой кишке в условиях, близких к физиологическим. В: *Биол. мембраны*. 1984, Т.1, № 10, с. 997-1018.
19. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф. и др. Предпосылки и основные положения санокреатологической теории питания человека. II.

Постулаты санокреатологической теории питания. În: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii*, 2011, nr. 1, p. 4-14.

20. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф. и др. Стратегия создания теории и практики санокреатологического питания. В: *Фундаментальные и прикладные аспекты физиологии пищеварения и питания. В: Сборник материалов Всероссийского симпозиума с международным участием, посвященного 90-летию со дня рождения академика А.М. Уголева*. Санкт-Петербург, 2016, с. 116-118.

21. Шептицкий В.А., Струтинский Ф.А., Строкова В.Н. и др. Активность пищеварительных протеиназ у крыс с высоким уровнем стрессореактивности в зависимости от структуры рациона. В: *Инфекция, иммунитет и фармакология*. 2019, № 2, с. 356-357.