

з культурою клітин СНЕВ та суспензіями органів свиней також не спостерігали.

Висновки. Таким чином, на підставі проведених генетичних досліджень, штами ентеровіруси свиней Ч-2372, Б-652, П-642, Д-32, Д-33, Д-34, І-59, Р-501, Г-95, П-142, В-151, та Г-31, які були виділені на території України, рекласифіковано і віднесено згідно з сучасною міжнародною класифікацією до роду *Teschovirus* виду *Porcine Teschovirus*. Результати дослідження вірусів у реакції нейтралізації та полімеразній ланцюговій реакції збігаються, що відкриває перспективи розробки діагностичних тест-систем на основі молекулярно-генетичних методів за використання розроблених олігонуклеотидних праймерів.

Список використаних джерел

1. Ашмарин Н.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л.: Медицинская литература, 1965. – 240 с.
2. Бабкін М.В. Структурний аналіз інфекційних хвороб свиней в Україні в сучасних умовах / Бабкін М.В., Прохорятюва О.В., Явніков Н.В., Годовський О.В. // Ветеринарна медицина: Міжвід. тем. наук. зб. – Харків, 2006. – Вип. 86. – С. 25-30.
3. Дерев'янюк С.В., Сорока В.І. Класифікація ентеровірусів свиней: сучасний стан та проблеми Ветеринарна медицина. – 2002. – № 80. – С. 195–200.
4. Пат. 51560 Україна, МПК (2009) С12Н 15/11. Спосіб виявлення РНК тешовірусів методом зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції / Дерев'янюк С.В., Головка А.М., Кацимон В.В., Сорока В.І., Бова Т.О. – № u200913732; заявл. 28.12.2009; опубл. 26.07.2010, бюл. № 14.

5. Пат. 58734 Україна, МПК G01N 33/53 (2006.01). Спосіб одержання гіперімунної сироватки крові до вірусів тварин і рослин / Бова Т.О., Волкова І.В., Дерев'янюк С.В. – № u201011151; заявл. 17.09.2010; опубл. 26.04.2011, бюл. № 8.

6. Рекомендації з діагностики, профілактики та ліквідації тешо- та ентеровірусних енцефаломієлітів свиней / [Укладачі В.І. Сорока, А.О. Бокун, С.В. Дерев'янюк та ін.]. – Чернігів: Інститут сільськогосподарської мікробіології НААН, 2006. – 28 с.

7. Романенко В.Ф. Классификация энтеровирусов свиней / Романенко В.Ф., Прусс О.Г., Бабич Н.В. и др. // Вісник аграрної науки. – 1993. – № 1. – С. 94–101.

8. Романенко В.Ф., Сорока В.І. Особенности эпизоотологии энзоотического энцефаломиелита (болезни Тешена) свиней // Общая эпизоотология: иммунологические, экологические и методологические проблемы: 36. наук. праць – Харьков, 1995. – С. 92-95.

9. Agol V.I., Paul A.V., Wimmer E. Paradoxes of the replication of picornaviral genomes // Virus Res. – 1999. – Vol. 62, № 2. – С. 129–147.

10. Fauquet C.M. Viruses Taxonomy: Eighth Report of the International Committee for the Taxonomy of Viruses / Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J. et al. – New-York; San Diego: Academic Press, 2005. – P. 657–673.

11. Kaku Y., Sarai A., Murakami Y. Genetic reclassification of porcine enteroviruses // J. Gen. Virol. – 2001. – Vol. 82. – P. 417–424.

12. Kaku Y. Unique characteristics of a picornavirus internal ribosome entry site from the Porcine teschovirus-1 Talfan / Kaku Y., Chard L. S., Inoue T., Belsham G. J. // Journal of Virology. – 2002. – Vol. 76, № 22. – P. 11721–11728.

13. Porcine teschovirus 11 strain Dresden polyprotein gene, complete cds [Електронний ресурс]: Офіційний сайт GenBank. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/AF296096>.

14. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimation of fifty per cent endpoints // Am. J. Hyg. – 1938. – Vol. 27, № 3. – P. 493–497.

15. Virus Taxonomy: 2012 Release (current) [Електронний ресурс]: Офіційний сайт Міжнародного комітету з таксономії вірусів. – Режим доступу: <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>.

Надійшла до редколегії 17.09.13

С. Демидов, д-р биол. наук, проф., С. Дерев'янюк, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., Т. Бова, канд. биол. наук, М. Гончар, зав. лаб. ПЛР КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ТЕШОВИРУСОВ СВИНЕЙ

По результатам вирусологических, генетических и серологических исследований штаммы энтеровирусов свиней М-2372, Б-652, П-642, Д-32, Д-33, Д-34, И-59, Р-501, Г-95, П-142, В-151, и Г-31, выделенные на территории Украины, рекласифицированы в соответствии с требованиями Международного комитета по таксономии вирусов и отнесены к роду *Teschovirus* вида *Porcine teschovirus*. Установлена высокая видовая специфичность оригинальных олигонуклеотидных праймеров для идентификации тешовирусов свиней открывает перспективы разработки диагностических тест-систем на основе молекулярно-генетических методов.

Ключевые слова: тешовирусы свиней, рекласификация, праймеры, полимеразная цепная реакция.

Demidov S.D.Sc, Derevyanko S.PhD, Bova T.PhD, Gonchar M. Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

MOLECULAR GENETIC IDENTIFICATION OF PIGS TESCHOVIRUS

As a result of virology, genetic and serological tests Porcine enteroviruses strains of Ch-2372, B-652, P-642, D-32, D-33, D-34, I-59, P-501, G-95, P-142, G-31 isolated in Ukraine, reclassified in accordance with the International Committee on Taxonomy of viruses and referred to the genus *Teschovirus* species *Porcine teschovirus*. The high species specificity of the original oligonucleotide primers for identification Porcine teschovirus opens new perspectives of development of diagnostic kits based on molecular genetic methods.

Keywords: Porcine teschovirus, reclassification, primers, polymerase chain reaction.

УДК 577.151.62:571.27:616.36-008.811.1

О. Берник, асп., К. Дворченко, канд. біол. наук, А. Драницина, канд. біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ІМУНОБІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СТАНУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОЇ ГІПОХЛОРИДРІЇ ШЛУНКУ

Робота присвячена дослідженню взаємозв'язку системи оксиду азоту і рівня цитокінів в клітинах печінки щурів в умовах тривалої гіпохлоридрії. Показано накопичення нітрит-іонів і посилення активності синтази оксиду азоту в клітинах печінки при зниженій шлунковій секреції. В даний час доведена ключова роль оксиду азоту в регуляції імунних реакцій, так, нами встановлено, що тривала гіпохлоридрія супроводжується виробленням прозапальних цитокінів (фактора некрозу пухлини α , інтерлейкіну-6).

Ключові слова: печінка, гіпохлоридрія, система оксиду азоту, цитокіни.

Вступ. Гідрохлоридна кислота шлункового соку, яка синтезується парієтальними клітинами фундальних залоз шлунку, виконує важливу роль у регуляції процесів травлення та забезпечує антибактеріальний ефект секрету [1]. Гіпер- та гіпосекреція гідрохлоридної кислоти може спричинювати морфологічні зміни у шлунку, що є причиною розвитку кислото-залежних гастритів. Сьогодні гіпохлоридрію шлункового соку розгля-

дають як чинник трансформації клітин слизової оболонки шлунку, що може призвести до подальшої малігнізації тканин [2]. Проте, літературні дані щодо молекулярних механізмів цього процесу є малочисельними. Існує ряд механізмів інгібування секреції хлоридної кислоти, зокрема, нейрогуморальні та хімічні фактори, проте основним чинником довготривалого зниження секреції гідрохлоридної кислоти є дезактивація

H^+/K^+ -АТФази інгібіторами протонної помпи, зокрема омепразолом та іншими сполуками (лансопразол, пантопразол), які є похідними бензімідазолу [3]. Ці сполуки, накопичуючись, головним чином, у внутрішньоклітинних каналцях парієтальних клітин, зв'язують H^+ і ковалентно взаємодіють з SH-групами ензиму, розташованими на люмінальній поверхні апікальної мембрани [4]. Відновлення активності H^+/K^+ -АТФази після обробки омепразолом відбувається у міру синтезу нових молекул ензиму, тому тривалість викликаного ним інгібування залежить від швидкості оновлення ензиму. Наслідком гіпохлоргідрії є пригнічення активності шлункових ензимів, погіршення денатурації і набрякання білкових молекул, порушення всмоктування мікроелементів і вітаміну B_{12} , зміна рухової функції шлунку, що призводить до сповільнення викиду хімуса зі шлунку у дванадцятипалу кишку [5]. Крім того, підвищення рН в шлунку ослаблює бактерицидну дію шлункового соку, що створює ідеальні умови для розмноження патогенної мікрофлори та розвитку запальних процесів у шлунково-кишкового тракту [6, 7]. За умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії можливе виникнення метаболічних змін у печінці внаслідок розвитку ендотоксимії, яка може бути спричинена надходженням з портальною кров'ю патогенних мікроорганізмів, бактеріальних ліпополісахаридів і токсинів з кишечника, що може призвести до активації клітин Купфера, а отже надмірної продукції прозапальних цитокінів (ФНП- α ін) [8] та оксиду азоту [9]. В літературі відсутні дані щодо комплексного дослідження метаболічних шляхів, залучених у розвиток ендотоксимії в умовах зниженої секреції гідрохлоридної кислоти шлунку та корекції цих станів препаратами пробіотиків, механізми дії яких залишаються недостатньо вивченими. У зв'язку з цим, метою роботи було визначити експресію генів iNOS (кодує індукційну синтезу оксиду азоту) та оцінити вміст оксиду азоту і цитокінів у печінці щурів за умов тривалої пригнічення кислотної секреції шлунка блокаторм H^+/K^+ -АТФази омепразолом.

Матеріали та методи. У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій стосовно проведення медико-біологічних досліджень із використанням тварин згідно Європейської конвенції (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes). У досліді використовували білих нелінійних статевозрілих щурів-самців із початковою вагою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин розділяли на дві групи. В якості контролю (перша група) використовували щурів, яким протягом 28 днів вводили інтраперитонеально 0,2 мл та перорально 0,5 мл води для ін'єкцій. Моделювання гіпохлоргідрії стану (друга група) проводили за допомогою внутрішньоочеревинного введення 14 мг/кг омепразолу, 1 раз на добу протягом 28 днів [10]. Кількість тварин у кожній експериментальній групі – 10. Морфологічно та функціонально інтактні клітини печінки було отримано згідно модифікованого неферментативного методу виділення гепатоцитарної фракції клітин печінки за Петренко А.Ю. зі співав [11]. Визначення активності синтази оксиду азоту (NO-синтази) проводили згідно з методом [12], який полягає у визначенні приросту продуктів аеробного окислення оксиду азоту. Активність ферменту виражали в нмоль продуктів аеробно-

го окислення оксиду азоту, утворених ферментом за 1 хв. з розрахунку на 1 мг білка. Вміст нітрит-іонів (NO_2^-) визначали за методом Гріса [13] із модифікаціями. РНК отримували за методом Chomczynski [14]; кДНК синтезували в 20 мкл реакційної суміші, яка містила 2 мкг РНК, 1 мМ дНТФ, 200 од. зворотної транскриптази RevertAid M-MLV, відповідний буфер, 20 од. рибонуклеазного інгібітору (RiboLock), 20 пкмоль зворотнього праймеру. Синтез проводився за таких умов: 70°C – 5 хв., далі 37°C – 5 хв., 42°C – 1 год. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили в 30 мкл реакційної суміші, що містила 10 мкл кДНК, буфер для ПЛР, по 200 мкМ кожного дНТР, по 30 пкмоль (1,0 мкМ) кожного праймера, до 2,5 мМ $MgCl_2$ та 1,5 од. Taq ДНК полімерази ("MBI Fermentas", Литва). Ампліфікацію фрагментів ДНК здійснювали за таких температурних умов: ініціююча денатурація 94°C – 4 хв.; далі 35 циклів (для *Actb* – β -актин (ген, що використовується в якості внутрішнього контролю реакції завдяки конститутивній експресії) – 28 циклів): денатурація ДНК 94°C – 45 сек.; гібридизація праймерів 52 °C – 45 сек. для індукційної синтази оксиду азоту (*Nos2*) (440 п.н.) [15] та 49°C – 40 сек. для *Actb* (521 п.н.); добування ланцюга 72°C – 1 хв. 15 сек (для *Nos2*) або 1 хв. (для *Actb*). Після цього проводили добування ампліфікатів при 72°C – 5 хв. У реакціях було використано такі послідовності праймерів: для iNOS – прямий – GTGTTCCACCAGGAGATGTTG та зворотній – CTCCTGCCCACTGACTTCGTC та для β -актину – прямий – TGGGACGATATGGAGAAGAT та зворотній – ATTGCCGATAGTGATGAXCT. Розділення продуктів полімерізації ланцюгової реакції проводили електрофоретично в 1,6% агарозному гелі ("Gibco", Німеччина), у 0,5 кратному TBE буфері, як описано в Sambrook et al. [16], при напрузі 5-10 В/см. Для напівкількісного аналізу експресії ампліконів на основі денситометрії було використано програму ImageJ 1.45s (NIH, США). Індекси експресії мРНК визначали, як описано в Konturek et al. [17]. Концентрацію цитокінів було визначено методом мультиканальної хемілюмінесценції [18] на основі мультипараметричного імунохімічного біочіпа фірми RANDOX. Вміст білку визначали за методом Лоурі [19]. Математичну та статистичну обробку результатів досліджень проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [20] на комп'ютері з використанням програмного пакету GraphPad Prism 4.03 (GraphPad Software Inc., США). Отримані дані тестувалися на нормальне розподілення за допомогою тесту Шапіро-Вілка. Подальший обрахунок результатів відбувався за допомогою односпрямованого дисперсійного аналізу (one-way ANOVA) із пост тестом Тукея. Значення $p < 0,05$ було прийнято як вірогідне.

Результати та обговорення. Імунобіохімічні показники були вивчені в групі тварин з експериментальною гіпохлоргідрією. Нами показано підвищення активності NO-синтази (в 7 разів, $p < 0,05$) відносно контролю (табл.1) та накопичення нітрит йонів (в 5,3 рази, $p < 0,05$) у лізаті клітин печінки щурів за умов тривалої гіпохлоргідрії, що може визначатися антибактерицидним ефектом оксиду азоту при надходженні у печінку ліпополісахаридів із кров'ю в умовах дисбактеріозу кишечника характерного для гіпоацидних станів [21].

Таблиця 1. Загальна NO-синтазна активність та вміст нітрит-іонів у лізаті гепатоцитів щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Група тварин	Контроль	Омепразол
NO-синтаза, $nmol \times h^{-1} \times mg \text{ білка}^{-1}$		$0,36 \pm 0,04$	$2,51 \pm 0,24$
<i>Nos2 / Actb</i> , ум. од.		–	$0,69 \pm 0,05$
NO_2^- , $nmol \times h^{-1} \times mg \text{ білка}^{-1}$		$70,4 \pm 6,1$	$370,1 \pm 30,0$

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем.

Підвищення рівня оксиду азоту можливе як за рахунок активації конститутивної, так і індукційної NO-синтази, так Korhonen R. показано, що ліпополісахариди (ЛПС) або ендотоксини є індукторами iNOS [22]. У результаті проведених досліджень нами не виявлено мРНК *Nos2* у лізаті клітин печінки контрольних щурів, проте після 28-денного введення омепразолу було зафіксовано експресію даного гену (нами були одержані продукти ПЛР однакового розміру: 440 п.н.) (табл.1). Основною функцією NO, продукованого iNOS, є участь в імунних процесах, включаючи антипатогенні реакції, неспецифічну цитотоксичність, протипухлинний захист та ін. Активацію експресії індукційної NO-синтази можна пояснити зростанням рівня прозапальних факторів. Індукція iNOS в клітинах може бути ініційована прозапальними цитокинами – інтерфероном γ (ІФН- γ), фактором некрозу пухлин α (ФНП- α) або інтерлейкіном-1, -6 (ІЛ-1, ІЛ-6). Оксид азоту, що утворюється при активації індукційної ланки синтезу NO, може взаємодіяти з численними білками і ферментами в сигнальних шляхах клітин. Вони включають молекули, залучені в передачу цитокінового сигналу, такі як JAK- або STAT-білки, шлях NF κ B / I κ B, а також MAGK, деякі G-білки та фактори транскрипції [23, 24]. Саме нітрозилування цистеїну в цих білках може призвести до їх активації або інактивації. На ранніх стадіях хронічного захворювання печінки вироблення цитокінів стимулює сам пошкоджуючий агент (етанол, бактерії), на більш пізніх – цю роль, в основному, беруть на себе ендотоксини. Дія цитокінів відбувається найчастіше місцево, там, де формується імунна відповідь або в місці проникнення патогена. У нормі цитокіни, утворені при первинній імунній відповіді, практично не надходять в кров. Тільки при патології їх вміст в сироватці крові підвищується, що було раніше показано за умов тривалого введення омепразолу [25]. За сучасними уявленнями про-

відна роль у розвитку захворювань печінки належить імунорегуляції [26]. Розглядаючи патофізіологічний ланцюг перетворень при токсичному ураженні печінки – першою ланкою є продукція ФНП- α , який стимулює вироблення інших цитокінів. Хоча анатомічне розташування печінки й її центральна роль в детоксикації обумовлюють постійну атаку органу бактеріальними ендотоксинами [27], які індукують ФНП-генерацию в інших тканинах, експресію генів ФНП- α в нормальній печінці виявлено в слідових кількостях. Порівняння печінки здорових щурів та тварин, після хронічного впливу етанолу виявило в останніх уразливість до летальних сигналів, які запускаються активацією I типу рецепторів ФНП- α , що призводить до ФНП- α опосередкованого посилення продукції гепатоцитами активних кисневих радикалів [28]. Показано, що джерелом цього цитокіну при хронічних ураженнях печінки є не тільки клітини запального інфільтрату, але й власне гепатоцити [29]. Рецептори до іншого прозапального цитокіна ІЛ-6 також знайдені в гепатоцитах [30, 31]. За різноманітним клітинним джерел і мішеней біологічної дії інтерлейкін-6 є одним з найбільш активних цитокінів, які беруть участь у реалізації імунної відповіді і реакції запалення. Активність ІЛ-6 по відношенню до клітин печінки полягає в експресії генів, що контролюють синтез білків гострої фази при запаленні. Нами показано підвищення рівня прозапальних цитокінів ФНП- α (на 26%, $p < 0,05$), ІЛ-6 (в 8 разів, $p < 0,05$) у клітинах печінки щурів при експериментальній гіпохлоргідрії (табл. 2), що може призводити до стимуляції вироблення амілоїдних пептидів, пригнічення синтезу білка гепатоцитами, інгібування глікогенезу, порушення мітохондріального дихання та індукції гепатоцелюлярного апоптозу. Більш того, стійке збільшення рівня прозапальних цитокінів може призводити до перетворення зірчастих клітин в колаген-продукуючі та до розвитку фіброзу [32].

Таблиця 1. Вміст про- та протизапальних цитокінів у лізаті гепатоцитів щурів з тривалою шлунковою гіпохлоргідрією ($M \pm m$; $n = 10$)

Показники \ Група тварин	Контроль	Омепразол
ІЛ-6, пмоль/мг білка	10,22 $\pm$ 0,88	83,22 $\pm$ 7,21*
ФНП- α , пмоль/мг білка	40,14 $\pm$ 3,39	53,53 $\pm$ 4,21*

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем.

Отримані дані узгоджуються з ефектами ендотоксинів і ролі цитокінів в патофізіології ендотоксинемії при надходженні ендотоксинів у печінку, так встановлено, що ліпополісахариди впливають на фагоцитарну активність макрофагів, мають пряму імуносупресорну дію, є ключовими в патогенезі ендотоксичного шоку, який нерідко завершується поліорганною недостатністю, а також відіграють провідну роль у гемокоагуляційних порушеннях при інфекціях [33].

Висновки. Отже, нами показано, що стан експериментальної гіпохлоргідрії супроводжується активацією системи оксиду азоту та гіперпродукцією прозапальних цитокінів у клітинах печінки щурів, що може бути пов'язано з розвитком дисбактеріозу в умовах довготривалого зниження секреції гідрохлоридної кислоти.

Список використаних джерел

1. Linar E.Yu. Acid secretion in the stomach in health and disease. – Riga: "Zinante", 1968. – 139 p.
2. Jensen R. Consequences of long-term proton-pump blockade: insights from studies of patients with gastrinomas // Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology. – 2006. – Vol.98, №1. – P.4-19.
3. Olbe L., Berglindh T., Elander B., et al. Properties of a new class of gastric acid inhibitors // Scand J Gastroenterol Suppl. – 1979. – №55. – P.131-135.

4. Yang Y.X., Hennessy S., Probert K., et al. Chronic proton pump inhibitor therapy and the risk of colorectal cancer // Gastroenterology. – 2007. – №133 (3). – P. 748-754.
5. Kassarian Z., Russell R.M. Hypochlorhydria: a factor in nutrition // Annual Review of Nutrition. – 1989. – Vol. 9. – P. 271-285.
6. Williams C., McColl K.E. Proton pump inhibitors and bacterial overgrowth // Alimentary pharmacol. and Therapeutic. – 2006. – Vol. 23. – P. 3-10.
7. Vakal S. E., Dvorshchenko K. O., Dranitsina A. S., Borodina T. V., Ostapchenko L. I. Expression of Cckbr, Gast, Reg1 α , Tgfb1 genes in rat pancreas upon long-term hypoacidty and with administration of multiprobiotic "Symbiter® acidophilic" concentrated // Biopolymers and Cell. – 2012. – Vol. 28 (N 6). – P. 461-467.
8. Scott M.J., Liu S., Su G.L., et al. Hepatocytes enhance effects of lipopolysaccharide on liver nonparenchymal cells through close cell interactions // Shock. – 2005. – №23 (5). – P. 453-458.
9. Seyffarth G., Nelson P.N., Dunmore S.J., et al. Lipopolysaccharide induces nitric oxide synthase expression and platelet-activating factor increases nitric oxide production in human fetal membranes in culture // Reprod Biol Endocrinol. – 2004. – №2. – P. 29-39.
10. Tsyriuk O.I., Beregova T.V. Effect of omeprazole-induced hypergastrinemia on the basal gastric secretion in rats // Bulletin of biological and medical issues. – 2007. – №3. – P. 38-43.
11. Petrenko A.Yu., Sukach A.N., Roslyakov A.D. Non-enzymatic method rat hepatocytes isolation // Biochemistry. – 1991. – Vol. 56, (№9). – P. 1647-1650.
12. Martin M.J., Jimenez M.D., Motilva V. New Issues about Nitric Oxide and its Effects on the Gastrointestinal Tract // Current Pharmaceutical Design. – 2001. – Vol.7. – P. 881-908.

13. Green L. C. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids / L. C. Green, A. W. David, J. Glosowski [et al.] // Anal. Biochem. – 1982. – Vol. 126, № 1. – P. 131–138.
14. Chomczynski P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction / Chomczynski P., Sacchi N. // Anal. Biochem. – 1987. – Vol. 162. – P. 156–159.
15. Nie Shi-Nan, Sun Hai-Chen, Wu Xue-Hao et. al. Cyclooxygenase 2, pS2, inducible nitric oxide synthase and transforming growth factor alpha in gastric adaptation to stress. World Journal of Gastroenterology 2004; 10(23): 3537–3541.
16. Sambrook J., Fritsch E., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual (2nd edition). – Cold Spring Harbor Laboratory Press. – 2001 – 2344 p.
17. Konturek P.C., Brzozowski T., Pierchalski P. et. al. Activation of genes for spasmolytic peptide, transforming growth factor alpha and for cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 during gastric adaptation to aspirin damage in rats. Aliment Pharmacol Ther 1998; 12: 767–777.
18. Berthold F. Instrumentation for Chemiluminescence Immunoassays, in Luminescence Immunoassay and Molecular Applications. – Boca Raton: "CRC Press", 1990. – P. 11–25.
19. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randal R.I. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, №1. – P. 265 – 275.
20. Dytham C. Choosing and using statistics. Abiologist's guide. – Oxford: "Blackwell Science", 1999. – 316 p.
21. Abdulahad K., Falaleeva T., Kuharsky V., et al. The effect of long-term gastric hypoacidity on morpho-functional state of digestive tract and Multiprobiotic "Simbiter" correction // Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. – 2012. – № 15. – P. 4–8.
22. Korhonen, R., Lahti, A., Kankaanranta, H., Moilanen, E., Nitric oxide production and signaling in inflammation // Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy. – 2005. – №4. – P. 471–479.
23. Kleinert H., Wallerath T., Fritz G., Ihrig-Biedert I. et al. Cytokine induction of NO synthase II in human DLD-1 cells: roles of the JAK-STAT, AP-1 and NF-kappaB-signaling pathways // Br J Pharmacol. – 1998. – № 125(1). – P. 193–201.
24. Luo, Y., Umegaki, H., Wang, X., Abe, R., Roth, G.S.. Dopamine induces apoptosis through an oxidation-involved SAPK/JNK activation pathway // J. Biol. Chem. – 1998. – P. 3756–3764.
25. Korotkiy O., Pilipenko S., Kompanets I., Tsyryuk O., Ostapchenko L., Beregovaya T. Multiprobiotics effect of the content of interferon-gamma in the serum of rats under prolonged hypoacidity // Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. – 2009. – № 54. – P. 47–49.
26. Leyshner Yu. Autoimmune liver disease and cross syndrome. – JVL: "Anacharsis", 2005. – 174 p.
27. Ivashkin V.G. Cellular and molecular biology of liver inflammation // Rus. Journal. Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. – 1998. – Vol.8 (№ 5). – P. 13–17.
28. Lieber C. S. Alcoholic liver disease: new insights in pathogenesis lead to new treatments // J Hepatol. – 2000. – №32. – P. 113–128.
29. Kono H., Rusyn I., Yin M. NADPH oxidase-derived free radicals are key oxidants in alcohol-induced liver disease // J Clin Invest. – 2000. – № 106 (7). – P. 867–872.
30. Ketlynsky C.A., Kalinina N.M. Cytokines of mononuclear phagocytes in the regulation of inflammation and immunity // Immunology. – 1995. – №3. – P. 30–44.
31. Freund M., Link H., Schmidt R.E., Welte K. et al. Cytokines in hemopoiesis, oncology and immunology. – Berlin: "Springer-Verlag", 1994. – 711 p.
32. Liu Q. Role of cytokines in the pathophysiology of acute-on-chronic liver failure // Blood Purif. – 2009. – № 28(4). – P. 331–341.
33. Greenberg L.M., Rudnov V.A. Sepsis and systemic inflammatory response theory: an attempt to clinical and morphological consensus // Arch. Pat. – 2007. – Vol. 4. – P. 56–59.

Надійшла до редколегії 25.12.13

О. Берник, асп., К. Дворченко, канд. биол. наук, А. Драницина, канд. биол. наук, Л. Остапченко, д-р биол. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОЙ ГИПОХЛОРИДРИИ ЖЕЛУДКА

Работа посвящена исследованию взаимосвязи системы оксида азота и уровня цитокинов в клетках печени крыс в условиях длительной гипохлоридрии желудка. Показано накопление нитрит иона и повышение активности синтазы оксида азота в клетках печени при сниженной желудочной секреции. В настоящее время доказана ключевая роль оксида азота в регуляции иммунных реакций, так нами установлено, что длительная гипохлоридрия сопровождается выработкой провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли α, интерлейкина-6).

Ключевые слова: печень, гипохлоридрия, система синтазы оксида азота, цитокины.

O. Bernuk, PhD stud., A. Dvorschenko, Phd., A. Dranicina, Phd., L. Ostapchenko, D.Sci.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

IMMUNOBIOCHEMICAL PARAMETERS OF RAT'S LIVER UNDER LONG-TERM GASTRIC HYPOCHLORHYDRIA

The present study aimed to correlation of nitric oxide system and cytokine levels in rat's liver cells under prolonged hypochlorhydria. Nitrite ions accumulation attached to increase nitric oxide synthase activity in the liver cells under reducing gastric acid secretion. Currently proved nitric oxide key role in the regulation of immune responses, so, prolonged hypochlorhydria accompanied by the synthesis of proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor α, interleukin-6).

Keywords: liver, hypochlorhydria, nitric oxide system, cytokines.

УДК 577.112.7

І. Кривдюк, асп., Т. Бакалець, асп., О. Рябовол, студ., Д. Мінченко, канд. мед. наук
Інститут біохімії НАН України, Київ

ЕКСПРЕСІЯ МРНК GADD34 ТА GADD45 У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87: ВПЛИВ БЛОКАДИ СИГНАЛЬНОГО ЕНЗИМУ ERN1 ТА ДЕФІЦИТУ ГЛЮКОЗИ

Фактори GADD34 та GADD45 відіграють важливу роль у пригніченні росту злоякісних пухлин. Встановлено, що блокада обох ензиматичних функцій сенсорно-сигнального ензиму ERN1 (від ендоплазматичного ретикулу до ядра-1), що є основним компонентом сигналізу за умов стресу ендоплазматичного ретикулу, суттєво знижує рівень експресії генів GADD34 і GADD45A та посилює експресію гена GADD45B у клітинах гліоми лінії U87. Збільшення рівня експресії гена GADD45B та зниження експресії генів GADD34 і GADD45A у клітинах гліоми за умов пригнічення обох ензиматичних активностей ERN1 може приймати участь у пригніченні проліферації цих клітин. Встановлено, що дефіцит глюкози посилює експресію генів GADD34, GADD45A та GADD45B в обох типах клітин гліоми, але пригнічення функції сигнального ензиму ERN1 модифікує ефект дефіциту глюкози на рівень експресії як GADD34, так і GADD45A та GADD45B. Таким чином, результати даної роботи продемонстрували, що експресія генів GADD34, GADD45A та GADD45B у клітинах гліоми лінії U87 є залежною від сигнального ензиму ERN1 і змінюється за умов дефіциту глюкози, причому вираженість ефекту дефіциту глюкози істотно залежить від функції сигнального ензиму ERN1.

Ключові слова: GADD34, GADD45, глюкоза, клітки гліоми.

Вступ. Ішемія, як і гіпоксія, є важливим фактором росту різних злоякісних пухлин, в тому числі гліом, причому вони, як і багато інших факторів, є індукторами стресу ендоплазматичного ретикулу і експресії вели-

кої групи генів, зокрема тих, що контролюють процеси проліферації [1, 2]. Стрес ендоплазматичного ретикулу є відповіддю на накопичення не згорнутих чи неправильно згорнутих протеїнів у ендоплазматичному