

11. Grachev P. GPR54-Dependent Stimulation of Luteinizing Hormone Secretion by Neurokinin B in Prepubertal Rats / P. Grachev, X. F. Li, Y. S. Lin, M. H. Hu // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, № 9. – P. 443-454.
12. Irwig M.S. Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat / M.S. Irwig, G.S. Fraley, J.T. Smith [et al.] // Neuroendocrinology. – 2004. – Vol. 8, № 4. – P. 264-272.
13. Lee D. K. Discovery of a receptor related to the galanin receptors / D. K. Lee, T. Nguyen, G.P. O'Neill [et al.] // FEBS Lett. – 1999. – Vol. 446, № 5. – P. 103-107.
14. Migaud H. Kisspeptin and seasonal control of reproduction in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) / H. Migaud, R. Ismail, M. Cowan, A. Davie // Kisspeptin and seasonal control of reproduction in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) // Gen. Comp. Endocrinol. – Vol. 179, № 3. – P. 384-399.
15. Navarro V. M. Characterization of the Potent Luteinizing Hormone-Releasing Activity of KiSS-1 Peptide, the Natural Ligand of GPR54 / V. M. Navarro, J. M. Castellano, R. Fernández-Fernández [et al.] // Endocrinology. – 2005. – Vol. 146, № 1. – P. 156-163. (B).
16. Navarro V. M. Effects of KiSS-1 Peptide, the Natural Ligand of GPR54, on Follicle-Stimulating Hormone Secretion in the Rat / V. M. Navarro, J. M. Castellano, R. Fernández-Fernández [et al.] // Endocrinology. – 2005. – Vol. 146, № 4. – P. 1689-1697.
17. Panzica G., Viglietti-Panzica C., Balthazart J. Sexual dimorphism in the neuronal circuits of the quail preoptic and limbic regions // Microsc. Res. Tech. – 2001. – Vol. 54, № 6. – P. 364-374.

18. Parhar I.S. Laser-captured single digoxigenin-labeled neurons of gonadotropin-releasing hormone types reveal a novel G protein-coupled receptor (Gpr54) during maturation in cichlid fish / I.S. Parhar, S. Ogawa, Y. Sakuma // Endocrinology. – 2004. – Vol. 8, № 145. – P. 3613-3618.
19. Ratnasabapathy R. The effects of kisspeptin in human reproductive function – therapeutic implications / R. Ratnasabapathy, W.S. Dhillo // Curr. Drug Targets. – 2013. – Vol. 14, № 3. – P. 365-371.
20. Richard N. KiSS-1 and GPR54 at the pituitary level: overview and recent insights / N. Richard, S. Corvaisier, E. Camacho, M.L. Kottler // Peptides. – 2009. – Vol. 1, № 30. – P. 123-129.
21. Sonigo C. Overview of the impact of kisspeptin on reproductive function / C. Sonigo, N. Binart // Ann. Endocrinol. (Paris). – 2012. – Vol. 73, № 5. – P. 448-458.
22. Stevenson T. J. Gonadotropin-releasing hormone plasticity: A comparative perspective / T. J. Stevenson, T. P. Hahn, S. A. Macdougall-Shackleton, G. F. Ball // Front Neuroendocrinol. – 2012. – Vol. 33, № 3. – P. 287-300.
23. Thompson E. L. Central and peripheral administration of kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis / E. L. Thompson, M., Patterson, K.G. Murphy [et al.] // Neuroendocrinol. – 2004. – Vol. 16, № 10. – P. 850-858.
24. Thompson E.L. Chronic subcutaneous administration of kisspeptin-54 causes testicular degeneration in adult male rats / E.L. Thompson, K.G. Murphy, M. Patterson [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2006. – Vol. 291, № 5. – P. 1074-1082.

Надійшла до редколегії 17.06.14

М. Матвиенко, асп., Г. Кривошеев, асп., Ю. Акимов, асп., А. Пустовалов, канд. биол. наук, М. Держинский, проф.
КНУ ім. Тараса Шевченка, Київ

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК ПРЕОПТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ α -АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ И КИСПЕПТИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Стимуляция α -адренергической системы мезатоном вызывает активацию только нейронов, однако не астроцитов преоптического ядра гипоталамуса крыс в возрасте 3 месяца. Антагонист кисспептину (P-234) полностью отменяет активирующее влияние мезатона. Празозин угнетает нейроны и астроциты и снимает стимулирующий эффект кисспептину. Для активации клеток преоптического ядра гипоталамуса крыс в этом возрасте требуется высокий уровень активности обеих систем: кисспептинергической и α -адренергической.

Ключевые слова: гипоталамус, нейрон, астроцит, кисспептин, α -адренорецепторы.

M. Matvienko, PhD stud., R. Krivosheyev, PhD stud., Yu. Akimov, PhD stud., A. Pustovalov, PhD., M. Dzerzhinsky, Prof.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN CELLS OF RAT PREOPTIC HYPOTHALAMIC NUCLEUS IN THE INTERACTION OF α -ADRENERGIC AND KISSPEPTINERGIC SYSTEMS

Stimulation of the α -adrenergic system with meztan causes the activation of only neurocytes, but not astrocytes of the preoptic hypothalamic nucleus of 3-months old rats. The kisspeptin antagonist (P-234) completely abolishes the activating meztan effect. Prazosin inhibits neurocytes and astrocytes and removes the stimulating kisspeptin effect. To activate the cells of the preoptic hypothalamic nucleus in rats at this age there is necessary a high level of activity of both kisspeptinergic and α -adrenergic systems.

Key words: hypothalamus, neurocyte, astrocyte, kisspeptin, α -adrenergic receptors.

УДК 577.21:612.34:616.33-008.821.14

А. Драницина, канд. біол. наук, У. Савко, асп.,
К. Дворщенко, канд. біол. наук, О. Морганко, канд. біол. наук,
В. Верещака, д-р мед. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ЭКСПРЕСИЯ ГЕНА *PAR2* В ЭПИТЕЛИОЦИТАХ ДВНАДЦАТИПАЛОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ ШЛУНКА ТА ПРИ ВВЕДЕННІ МУЛЬТИПРОБІОТИКА СИМБІТЕР

*Показано зростання рівня експресії гена *Par2* в епітеліоцитах ворсинок та крипт дванадцятипалої кишки за гіпоацидних умов. При введенні мультипробіотика Симбітер за тих самих умов рівень експресії вищезазначеного гена в епітеліоцитах ворсинок був подібний до контролю, у той час як зменшувався в 1,4 раза в криптах.*

Ключові слова: шлункова гіпоацидність, дванадцятипала кишка, щурі, експресія гена *Chga*, мультипробіотик.

Вступ. За останні десятиліття найбільш ефективними фармакологічними засобами при терапії гастроентерологічних кислотозалежних захворювань лишаються інгібітори протонної помпи (ІПП) парієтальних клітин шлунка, поширеним представником яких є омепразол [19, 20]. Розвиток дисбіозу – один із ключових наслідків тривалої гіпоацидності, при якому спостерігається колонізація шлунково-кишкового тракту (ШКТ) умовно-патогенною мікрофлорою, яка формує резервуари стій-

кої ендогенної інфекції та є додатковим фактором, що, окрім гіпергастринемії, сприяє шлунковому канцерогенезу, а також виникненню спорадичних пухлин в інших ділянках ШКТ та асоційованих з ним органах [4, 21].

На сьогодні дослідження характеру експресії генів, залучених до розвитку запальних порушень у дванадцятипалій кишці (ДПК) за умов тривалого пригнічення кислотопродукуючої функції шлунка, відсутні [3]. Ген *Par2* кодує мембранний рецептор, що активується про-

теїназами II типу – PAR2 (proteinase-activated receptor 2), який належить до великої родини рецепторів, спряжених із G-білком [10]. Встановлено, що PAR2 активується у відповідь на часткове протеолітичне розщеплення позаклітинного домену сериновими протеазами під впливом р38 MAP (мітоген-активованого протеїну) кінази та за рахунок сигнального шляху ядерного фактору "капа-бі" (NFκB) переважно шляхом активації IKKβ (інгібувальної "капа-бі" кінази) [17]. Прийнято розглядати зростання рівня експресії гена *Par2* як захисний механізм клітин від передчасної активації протеолітичних ферментів [10]. Зокрема, показано збільшення рівня експресії цього гена як при запаленні, так і за умов малигнізації тканин [17]. У клінічних дослідженнях доведено здатність пробіотичних препаратів не лише лікувати дисбіотичні стани, але й безпосередньо зменшувати ступінь ураження ШКТ [1, 7]. Мультипробіотичні препарати групи "Симбітер® ацидофільний" концентрований (далі Симбітер) характеризуються полікомпонентністю, широким спектром біологічної активності та складом, максимально наближеним до природних мікробіоценозів організму людини та тварин [1, 12]. При аналізі наукової літератури не було знайдено даних стосовно характеру експресії вищезазначеного гена в епітеліоцитах ДПК щурів за умов експериментальної гіпоацидності шлунка. Окрім цього, лишається невисвітленою дія пробіотичних препаратів на експресію гена *Par2* в ДПК за таких умов.

Таким чином, доцільним було проаналізувати експресію гена *Par2*, який є сенсором передчасної активації протеаз (у першу чергу – трипсину), в епітеліоцитах ДПК щурів як за умов тривалого пригнічення кислотної секреції шлунка блокаторм H^+/K^+ -АТФази омепразолом (і, відповідно, за підвищених концентрацій циркулюючого в крові гастрину), так і при відновленні нормобіозу шлунка шляхом введення мультипробіотика Симбітер.

Об'єкт та методи досліджень. У дослідженні використовували білих неплідних статевозрілих щурів-самців із початковою масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій для проведення медико-біологічних досліджень із використанням тварин відповідно до Європейської конвенції (European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes).

Тварин розділяли на чотири 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. Тварини другої групи протягом 28 днів перорально отримували Симбітер (виробництва ТОВ "О.Д. Проліска") у дозі 0,14 мл/кг, розчинений у 0,5 мл води для ін'єкцій. Моделювання гіпоацидного стану (третя група) проводили за допомогою внутрішньочеревного введення 14 мг/кг омепразолу, 1 раз на добу протягом 28 днів [22]. Четверта група щурів одночасно з інтраперитонеальним введенням омепразолу перорально отримувала Симбітер у вищезазначеній дозі. Кількість тварин у кожній експериментальній групі – 6.

Епітеліоцити ворсинок та крипти із ДПК ізолювали за допомогою низькотемпературного методу [11]. РНК отримували за методом Chomczynski [6]; кДНК синтезували в 20 мкл реакційної суміші, яка містила 2 мкг РНК,

1 мМ dNTP, 50 од. зворотної транскриптази (3T) "MultiScribe™ Reverse Transcriptase", відповідний буферний розчин, 20 од. рибонуклеазного інгібітору "RNase Inhibitor" ("Applied Biosystems", США), 1 мкМ зворотного праймеру. Синтез тривав 120 хв. за температури 37° С. Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили в 30 мкл реакційної суміші, що містила 3 мкл кДНК, буферний розчин для ПЛР, по 200 мкМ кожного dNTP ("MBI Fermentas", Литва), по 1 мкМ кожного праймера, до 2,5 мМ $MgCl_2$ та 1,5 од. Taq ДНК полімерази ("iTaQ™", "Bio-Rad", США). Ампліфікацію фрагментів ДНК здійснювали за таких температурних умов: ініціююча денатурація 95° С – 3 хв.; далі 35 циклів (для *Actb* (ген β-актину, що використовується в якості внутрішнього контролю реакції завдяки конститутивній експресії) – 28 циклів): денатурація ДНК 95° С – 45 с.; гібридизація праймерів 45° С – 45 с для *Par2* (357 п. н.) та 49° С – 40 с. для *Actb* (521 п. н.); добування ланцюга 72° С – 1 хв. 15 с. (для *Par2*) або 1 хв. (для *Actb*). Після цього проводили добування ампліфікатів при 72° С – 5 хв.

У реакціях було використано такі послідовності праймерів: для *Par2* – прямий – GAATGCACCGGGACCCAA та зворотний – TCCCCATAGGTCCAGTCGTT; для *Actb* – прямий – TGGGACGATATGGAGAAGAT та зворотний – ATTGCCGATAGTGATGACCT. Відтворюваність результатів ампліфікації було перевірено в паралельних експериментах шляхом повторення ПЛР на кДНК усіх тварин, із кожним праймером не менше трьох разів. Розділення продуктів ПЛР проводили електрофоретично в 1,6% агарозному гелі ("Agarose LE", "Roche", Німеччина), у 0,5-кратному TBE-буферному розчині при напруженні електричного поля 5-10 В/см за Sambrook et al. [18]. Для напівкількісного аналізу експресії ампліконів на основі денситометрії було використано програму ImageJ 1.45s ("NIH", США). Індекси експресії гена визначали для кожного зразку за Konturek et al. [13].

Математичну та статистичну обробку результатів досліджень проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики на комп'ютері з використанням програмного пакету GraphPad Prism 5.04 (GraphPad Software Inc., США). Отримані дані тестували на нормальне розподілення за допомогою тесту Шапіро-Вілка. Подальший обрахунок результатів відбувався за допомогою двофакторного дисперсійного аналізу (two-way ANOVA) із пост тестом Бонферонні. Отримані результати наведені у вигляді середнього арифметичного ± середньоквадратичне відхилення (дисперсія) – SD. Результати вважали достовірними, коли $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. У результаті проведених нами експериментальних досліджень було виявлено експресію мРНК гена *Par2* (продукт 3T-ПЛР розміром – 357 п.н.) у зразках епітеліоцитів ворсинок і крипти ДПК як контрольної, так другої групи тварин, які отримували мультипробіотик Симбітер (рис. 1).

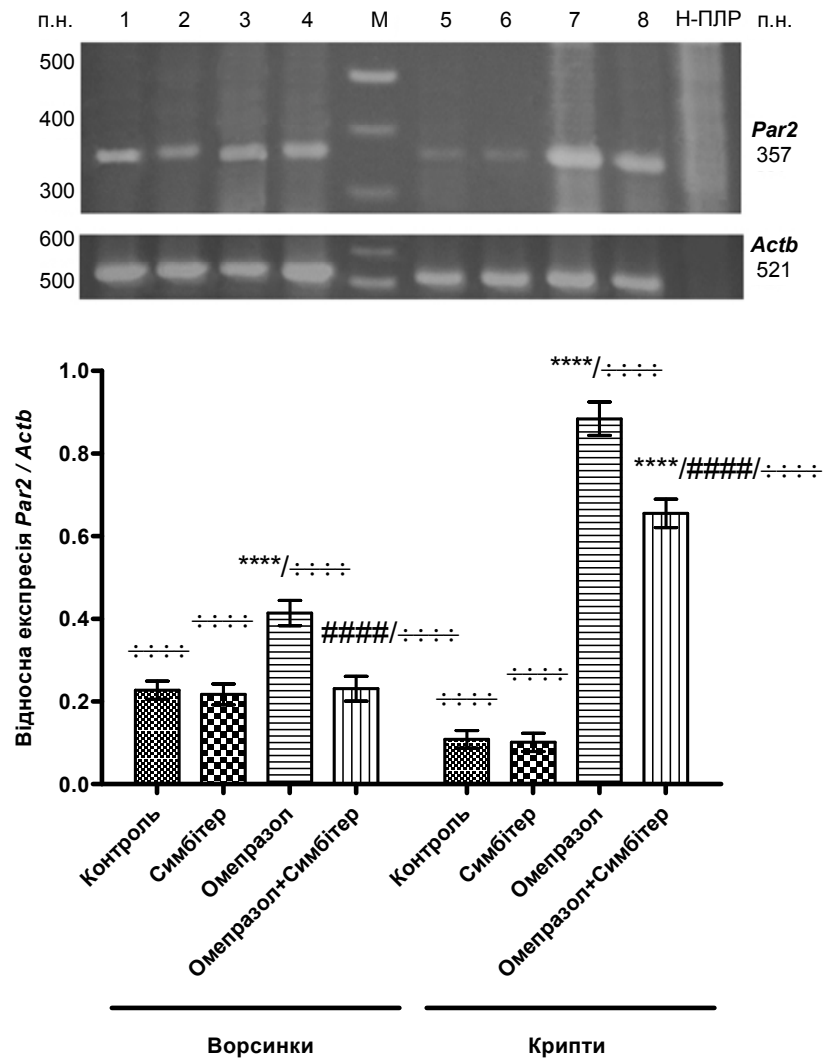


Рис. 1. Рівень експресії мРНК гена *Par2* в епітеліоцитах дванадцятипалої кишки щурів за умов тривалої гіпоацидності та при введенні мультипробіотика Симбітер

М – маркер молекулярної маси; епітеліоцити ворсинок: 1 – контроль; 2 – Симбітер; 3 – омепразол; 4 – омепразол + Симбітер; епітеліоцити крипт: 5 – контроль; 6 – Симбітер; 7 – омепразол; 8 – омепразол + Симбітер; Н-ПЛР – негативний контроль ПЛР; **** – $P \leq 0,0001$ відносно контролю; ##### – $P \leq 0,0001$ відносно тварин, яким вводили лише омепразол; +++++ – $P \leq 0,0001$ ворсинки порівняно з криптами.

Рівні експресії гена *Par2* в контрольній та другій групі епітеліоцитів крипт достовірно не відрізнялися, так само як і у ворсинках, на відміну від типів епітеліальних клітин. Рівні експресії цього гена в третій та четвертій

групах як ворсинок, так і крипт епітелію ДПК відрізнялися достовірно, так само як і між типами епітеліальних клітин ($P \leq 0,0001$) (рис. 1., табл. 1.).

Таблиця 1. Рівень експресії гена *Par2* в епітеліоцитах ДПК щурів за умов тривалої гіпоацидності та при введенні мультипробіотика Симбітер, ($m \pm SD$, $n=6$)

Група тварин	Типи епітеліоцитів	Відносна експресія <i>Par2/Actb</i>
Контроль	ворсинки	$0,227 \pm 0,0219$ +++++
	крипти	$0,108 \pm 0,0211$ +++++
Симбітер	ворсинки	$0,217 \pm 0,0250$ +++++
	крипти	$0,101 \pm 0,0222$ +++++
Омепразол	ворсинки	$0,414 \pm 0,0308$ ****/++++
	крипти	$0,884 \pm 0,0405$ ****/++++
Омепразол + Симбітер	ворсинки	$0,231 \pm 0,0299$ #####/++++
	крипти	$0,655 \pm 0,0344$ ****/#####/++++

Примітки: **** – $P \leq 0,0001$ порівняно з контролем;

– $P \leq 0,0001$ відносно тварин, яким вводили лише омепразол;

+++++ – $P \leq 0,0001$ ворсинки порівняно з криптами.

Отримані результати (табл. 1, рис. 1) показали, що рівень експресії гена *Par2* був вищим в 1,8 раза ($P < 0,0001$) в епітеліоцитах ворсинок і в 8,2 раза

($P < 0,0001$) в епітеліоцитах крипт ДПК порівняно з контролем за умов тривалої шлункової гіпоацидності. У той же час, при одночасному введенні з омепразолом муль-

типробіотику Симбітер рівень відповідної мРНК був в 1,8 та 1,4 раза нижчим, ніж у тварин третьої групи ($P < 0,0001$).

Встановлене зростання рівня мРНК гена *Par2* за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії в епітеліоцитах ворсинок та крипт ДПК щурів може свідчити про передчасну активацію протеолітичних ферментів, зокрема трипсину, що являється домінуючим активатором PAR2 [14]. Так, встановлене підвищення рівня мРНК гена *Par2* узгоджується з попередніми даними [2], де було продемонстровано зростання трипсинової активності в гомогенаті підшлункової залози щурів, оскільки трипсин є одним з основних природних активаторів PAR2 поряд із триптазою мастоцитів [2]. Більш того, встановлена наявність активованих катіонних ізоформ панкреатичних протеаз у панкреатичному соці [2] також може бути наслідком посиленої експресії гена *Par2*, оскільки активація PAR2 сприяє підвищенню секреції панкреатичного соку з розчиненими в ньому гідролазами. Крім того, активація PAR2 може викликати підвищену секрецію панкреатичного соку з розчиненими в ньому гідролазами з протоки в ДПК. Одночасно показано здатність PAR2 посилювати моторику ДПК [15]. Також підвищена експресія гена *Par2* узгоджується з нашими попередніми результатами [8, 9], де показано збільшення експресії генів регенеративних білків *Reg1α* та *TGF-β1* за тих же умов. Окрім цього, підвищений рівень експресії гена *Par2* за умов тривалої шлункової гіпоацидності в епітеліоцитах як ворсинок, так і крипт ДПК щурів може свідчити про розвиток запального процесу, оскільки відомо, що PAR2 також активується триптазами тучних клітин [5]. Це підтверджує посилену міграцію лейкоцитів у тканини органа з подальшим зростанням вмісту прозапальних цитокінів, синтезу молекул клітинної адгезії, проникності судин та генерації активних форм кисню в клітинах епітелію ДПК [5].

Отже, встановлені зміни експресії гена *Par2* в епітеліоцитах ворсинок та крипт за умов тривалої шлункової гіпоацидності свідчать про розвиток патологічних процесів у тканині ДПК, зокрема запалення. Різні рівні експресії та змін експресії проаналізованого гена в епітеліальних клітинах ворсинок та крипт обумовлені структурно-функціональними особливостями клітин ДПК [3]. Адже відомо, що на ранніх стадіях запальних захворювань тонкої кишки, зокрема ДПК, у першу чергу пошкоджуються епітеліоцити крипт за рахунок міграції нейтрофілів із судин у просвіт крипт, що призводить до формування криптових абсцесів [4].

Нормалізація цього показника при застосуванні мультіпробіотичного препарату, з одного боку, свідчить про відсутність передчасно активованих протеаз, а з іншого – може вказувати на важливу роль дисбіотично-запального шляху в розвитку пошкоджень в епітеліоцитах ДПК за умов тривалої гіпохлоргідрії, оскільки відомо, що рецептор PAR2 також активується бактеріальними протеазами [5]. Щодо можливих механізмів впливу мультіпробіотика Симбітер на експресію генів у ДПК, перш за все, слід зазначити його здатність ліквідовувати бактеріальну колонізацію ШКТ та дисбіоз, що знімає з ШКТ та асоційованих органів навантаження з боку патогенної мікрофлори [1, 7]. Також продукти життєдіяльності бактеріальних штамів, які представлені в препараті Симбітер (вітаміни, екзополісахарида, коротколанцюгові жирні кислоти, імуномодулятори тощо) володіють антиоксидантними властивостями, завдяки чому вони здатні гальмувати розвиток окисного стресу та знижувати інтенсивність запальних і деструктивних процесів у ДПК [8, 9, 12, 16]. Крім того, нещодавно у літературі з'явилися дані про зниження рівня гастрину в крові за умов тривалого введення Симбітеру [1]. Таким чином, можна

припустити, що встановлені в нашому дослідженні ефекти Симбітеру пов'язані не лише з нормалізацією мікробіоценозу ШКТ, але також з обмеженням прояву гіпергастринемії [1, 16]. Проте остаточне підтвердження або спростування цього припущення потребує проведення дослідження із застосуванням селективних антагоністів гастринового рецептора, що, у свою чергу, дозволить чітко відмежувати наслідки гіпергастринемії та бактеріальної колонізації ШКТ.

Висновки:

Нами показано, що стан експериментальної тривалої шлункової гіпоацидності супроводжується зміною характеру експресії гена *Par2* в епітеліоцитах дванадцятипалої кишки щурів. При введенні мультіпробіотика Симбітер за тих самих умов рівень експресії цього гена в епітеліоцитах крипт зменшується, у той час як патерн експресії зазначеного гена в ворсинках подібний до контролю. Отримані дані можуть свідчити про залучення гена *Par2* в розвиток запального процесу в ДПК за рахунок дисбіотичних змін за умов тривалої гіпохлоргідрії.

Список використаних джерел

1. Абдулахад К.Ф.А. Дослідження впливу мультіпробіотиків групи "Симбітер" на секреторну функцію шлунка у щурів в умовах тривалої гіпергастринемії: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.13 / Абдулахад Кусай Ф. Абдулахад; Київ: нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. – К., 2012. – 20 с.
2. Вакал С.Є. Біохімічні механізми пошкодження підшлункової залози щурів за умов тривалого пригнічення кислотної секреції шлунка: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.04 / Вакал Сергій Євгенович; Київ: нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. – К., 2013. – 20 с.
3. Alam T., Kenny D., Sweeney T., Buckley F., Prendiville R., McGee M., Waters S. Expression of genes involved in energy homeostasis in the duodenum and liver of Holstein-Friesian and Jersey cows and their F(1) hybrid // *Physiol Genomics*. – 2012. – Vol. 44 (2). – P. 198-209.
4. Barrett K., Ghishan F., Merchant J. etc. Physiology of the gastrointestinal tract. 4th edition. – New York: Academic Press, 2006. – 2080 p.
5. Bueno L. Protease activated receptor 2: a new target for IBS treatment // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2008. – Vol. 12 (1). – P. 95-102.
6. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Anal. Biochem.* – 1987. – Vol. 162. – P. 156-159.
7. Culligan E., Hill C., Sleator R. Probiotics and gastrointestinal disease: successes, problems and future prospects // *Gut Pathogens*. – 2009. – Vol. 1, N 19. – P. 38-49.
8. Dranitsina A., Dvorshchenko K., Savko U., Ostapchenko L. Expression of *Reg1a* gene in rat duodenum upon long-term hypoacidity and with administration of multiprobiotic "Symbiter®" acidophilic concentrated // *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kiev. Series Biology*. – 2013. – Vol. 2 (64). – P. 5-8.
9. Vakal S. E., Dvorshchenko K. O., Dranitsina A. S., Borodina T. V., Ostapchenko L. I. Expression of *Cckbr*, *Gast*, *Reg1a*, *Tgfb1* genes in rat pancreas upon long-term hypoacidity and with administration of multiprobiotic "Symbiter® acidophilic" concentrated // *Biopolym. Cell.* – 2012. – Vol. 28, N 6. – P. 376-383.
10. Gorelick F. Pancreatic protease-activated receptors: friend and foe // *F. Gorelick // Gut*. – 2007. – Vol. 56. – P. 901-902.
11. Flint N., Cove F.L., Evans G.S.H. A low-temperature method for the isolation of small-intestinal epithelium along the crypt-villus axis // *Biochem J.* – 1991. – Vol. 280 (Pt 2). – P. 331-334.
12. Iankovsky D., Dymant G. Microbiota and human health. – Kyiv: LLC Chervona Ruta-Turs, 2008. – 552 p.
13. Konturek P., Brzozowski T., Pierzchalski 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. – Vol. 12 (8). – P. 767-777.
14. Kawabata A., Kinoshita M., Nishikawa H., Kuroda R., Nishida M., Araki H., Arizono N., Oda Y., Takehi K. The protease-activated receptor-2 agonist induces gastric mucus secretion and mucosal cytoprotection // *J Clin Invest* – 2001. – Vol. 107 (11). – P. 1443-1445.
15. Kawabata A., Kuroda R., Nishikawa H., Kawai K. Modulation by protease-activated receptors of the rat duodenal motility in vitro: possible mechanisms underlying the evoked contraction and relaxation // *Br J Pharmacol* – 1999. – Vol. 128 (4). – P. 865-872.
16. Lutgendorf F., Trullsson L. M., van Minnen L. P., Rijkers G. T., Timmerman H. M., Franzén L. E., Gooszen H. G., Akkermans L. M., Söderholm J. D., Sandström P. A. Probiotics enhance pancreatic glutathione biosynthesis and reduce oxidative stress in experimental acute pancreatitis // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2008. – 295, N 5. – P. 1111-1121.
17. Ritchie E., Saka M., MacKenzie C., Drummond R., Wheeler-Jones C., Kanke T., Plevin R. Cytokine upregulation of proteinase-activated receptors 2 and 4 expression mediated by p38 MAP kinase and inhibitory kappa B

kinase human endothelial cells // British Journal of Pharmacology. – 2007. – Vol. 150. – P. 1044 – 1054.

18. Sambrook J., Russell D. Molecular cloning: a laboratory manual. – Cold Spring Harbor Laboratory Press; 3rd edition, 2000. – 2344 p.

19. Shin J., Vagin O., Munson K., Munson K., Kidd M., Modlin I. M., Sachs G. Molecular mechanisms in therapy of acid-related diseases // Cell. Mol. Life Sci. – 2008. – 65, N 2. – P. 264-281.

20. Sundstrom A., Blomgren K., Alfredson L., Wiholm B. Acid-suppressing drugs and gastroesophageal reflux disease as risk factors for

acute pancreatitis – results from a Swedish Case-Control Study // Pharmacoepidemiology and drug safety. – 2006. – 15, N 3. – P. 141-149.

21. Thomson A., Sauve M., Kassam N., Kamitakahara H. Safety of long-term use of proton pump inhibitors // World J. Gastroenterol. – 2010. – 16, N 19. – P. 2323-2330.

22. 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.

Надійшла до редколегії 20.06.14

А. Драницина, канд. біол. наук, У. Савко, асп., Е. Дворщенко, канд. біол. наук, А. Моргаєнко, канд. біол. наук, В. Верещака, д-р біол. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА PAR2 В ЭПИТЕЛИОЦИТАХ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛУДОЧНОЙ ГИПОАЦИДНОСТИ И ПРИ ВВЕДЕНИИ МУЛЬТИПРОБИОТИКА СИМБИТЕР

Показано увеличение уровня экспрессии гена Par2 в эпителиоцитах ворсинок и крипт двенадцатиперстной кишки крыс в гипоацидных условиях. При введении мультипробиотика Симбистер в тех же условиях уровень экспрессии данного гена в эпителиоцитах ворсинок был на уровне контрольных значений, в то время как уменьшался в 1,4 раза в криптах.

Ключевые слова: желудочная гипоацидность, двенадцатиперстная кишка, крысы, экспрессия гена Chga, мультипробиотик.

A. Dranitsina, PhD., U. Savko, PhD stud., K. Dvorchshenko, PhD., O. Morgaienko, PhD., V. Vereschaka, DSc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

EXPRESSION OF PAR2 GENE IN RAT DUODENAL UPON LONG-TERM HYPOACIDITY AND WITH ADMINISTRATION OF MULTIPROBIOTIC SYMBITER

The increasing of Par2 gene's expression in rat duodenal villus and crypt epithelial cells upon gastric hypoacidic conditions was shown. The level of Chga expression was similar to the control value in villus while it was decreased (in 1,4 times) in crypt epitheliocytes upon treatment of hypoacidic rats with multiprobiotic Symbiter.

Keywords: gastric hypoacid, duodenum, rat, expression gene Chga, multiprobiotic.

УДК 615.339:616-002.2

Д. Голишкін, асп., О. Вірченко, асп., Т. Фалалєєва, д-р біол. наук,
Т. Галєнова, канд. біол. наук, О. Савчук, д-р біол. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ВМІСТ ЦИТОКІНІВ У СІРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДІЇ СТРЕСУ ТА ВВЕДЕННЯ МЕЛАНІНУ

Було вивчено вміст прозапальних та антизапальних цитокінів у сироватці крові щурів за умов стресу та введення меланіну. Встановлено, що меланін зменшує рівень прозапальних цитокінів інтерлейкіну (ІЛ) – 1 β , ІЛ-12В р40, інтерферону- γ та фактору некрозу пухлин- α в сироватці крові щурів за умов стресу. Меланін також посилює антизапальні ІЛ-4 та ІЛ-10. Отримані результати свідчать про зменшення запалення під впливом досліджуваної сполуки за умов стресу. Антизапальні властивості меланіну є одним з механізмів стресадаптогенної та антивиразкової дії даної сполуки.

Ключові слова: меланін, стресові виразки, цитокіни, антизапальний ефект.

Вступ. Стресові виразки є проблемою важких хворих, які перебувають у відділеннях інтенсивної терапії і реанімації та викликають значну смертність хворих у критичному стані [1]. Особливо часто ці ускладнення виникають у хворих і потерпілих на тлі важкої серцевої – судинної, дихальної, печінкової і ниркової недостатності, а також при розвитку гнійно-септичних ускладнень. Гострі ерозії та виразки шлунково-кишкового тракту нерідко ускладнюються кровотечею або перфорацією. Частота виникнення стресових виразок шлунка та дванадцятипалої кишки у пацієнтів після поранень становить 27%, у пацієнтів з механічною травмою – 67%. Загальна частота виникнення стресових виразок становить 58%. Загальна летальність при ускладнених гострих ерозіях і виразках травного тракту залишається дуже високою і, за даними різних авторів, коливається від 35 до 95% [1].

Ключовими патогенетичними механізмами стресових виразок є зниження кровотоку в слизовій оболонці шлунка (СОШ) і ацидопептична агресія [2]. Провідна роль у профілактиці і терапії стресових виразок належить лікарським засобам, що істотно знижують продукцію гідрохлоридної кислоти, а отже, і активність пепсину. З появою в арсеналі кислотосупресивних засобів інгібіторів протонної помпи (ІПП) використовували раніше з цією метою антациди і H₂ – блокатори в даний час визнані недостатньо ефективними [3, 4].

В результаті численних порівняльних рандомізованих досліджень встановлено перевагу ІПП в здатності блокувати продукцію гідрохлоридної кислоти, збільшувати швидкість рубцювання виразок і ерозій, знижувати частоту хірургічних втручань і рецидивів кровотеч при пептичних виразках, а також підвищувати ефективність ерадикаційної терапії при інфекції, викликаній *Helicobacter pylori* [5, 6]. Проте тривале застосування блокаторів призводить також до збільшення розміру, ваги і кількості парієтальних клітин, зменшення кількості головних клітин СОШ і зниження синтезу мРНК пепсиногену. Основним негативним ефектом застосування інгібіторів протонної помпи є розвиток онкогенних процесів у СОШ [7].

Хоча на сьогодні розроблені і широко використовуються для лікування виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки досить ефективні фармакологічні засоби, арсенал засобів для профілактики розвитку та рецидивів виразкової хвороби обмежений. Аналіз сучасної літератури та наші попередні дані дозволяють стверджувати, що можливими перспективними засобами профілактики стресових уражень СОШ і дванадцятипалої кишки будуть речовини природного походження на основі поліфенольних сполук. До таких речовин належить меланін, який є продуктом життєдіяльності чорних дріжджів *Nadsoniella nigra* штам X-1, висіяних з вертикальних скель о.Галіндез (Українська Антарктична станція акаде-