

УДК 577.21:612.34:616.33-008.821.14

А. Драницина, канд. біол. наук, К. Дворщенко, д-р біол. наук,  
Д. Гребіник, канд. біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

## ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *CFTR*, *SLC9A3* ТА *SNN1B* В ЕПІТЕЛІОЦИТАХ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ШЛУНКОВОЇ ГІПОХЛОРИДРІЇ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ МУЛЬТИПРОБІОТИКА

Показано зростання рівня експресії генів *Cftr* і *Slc9a3* та зниження рівня мРНК гена *Snn1b* в епітеліоцитах ворсинок та крипт дванадцятипалої кишки на фоні інтенсифікації процесів утворення вільних радикалів за гіпоацидних умов. При введенні мультипробіотика Симбітер за тих самих умов рівень експресії проаналізованих генів в епітеліоцитах ворсинок та крипт наближався до контрольних значень.

Ключові слова: шлункова гіпохлоридрія, дванадцятипала кишка, експресія гена, *Cftr*, *Slc9a3*, *Snn1b*, мультипробіотик.

**Вступ.** Знижена кислотність шлункового соку, що виникає за рахунок порушення секреції гідрохлоридної кислоти паріетальними клітинами (ПК) шлунка, супроводжує значну кількість патологічних станів органів травної системи. Особливу увагу привертають препарати, котрі гальмують секрецію кислоти ПК шлунка: інгібітори  $H^+/K^+$  – АТФазы (інгібітори протонної помпи) – омепразол, пантопризол тощо [1, 2]. Будучи достатньо безпечними, вони, тим не менш, здатні призводити до підвищення рівня гастрину в крові – гіпергастринемії [3]. Крім цього, розвиток дисбіозу – один із ключових наслідків тривалої гіпоацидності, при якому спостерігається колонізація шлунково-кишкового тракту (ШКТ) умовно-патогенною мікрофлорою, яка викликає тривалу ендогенну інтоксикацію і є додатковим чинником, який, окрім гіпергастринемії, сприяє шлунковому канцерогенезу, а також виникненню спорадичних пухлин в інших ділянках ШКТ, зокрема у дванадцятипалій кишці (ДПК) [4, 5]. Накопичення прозапальних молекул із джерела ендогенного запалення і вплив клітинних та секреторних компонентів дисбіотичної мікрофлори можуть призводити до розвитку запального процесу, наслідком чого є як потужна генерація активних форм кисню (АФК), так і ініціація окисного стресу (ОС) [6-7]. Діарея, яка є доволі розповсюдженим проявом гіпохлоридрії шлунка, спричинюється, головним чином, порушеннями механізмів абсорбції іонів (в основному,  $Na^+$ ,  $H^+$ ,  $Cl^-$ ) [4, 8].

Ген муковісцидозу – *Cftr* – ген електрогенного трансмембранного регуляторного білку CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), який функціонує як  $Ca^{2+}$  – залежний хлорний канал в епітелії кишечника, в основному, в криптах [8, 9]. Показано підвищення експресії *Cftr*, секреторну діарею при дії бактеріальних ентеротоксинів [8].

Ген *Slc9a3* кодує електронейтральний натрій-водневий антипортер 3, також відомий як натрій-водневий транспортер 3 (NHE3) або SLC9A3 (solute carrier family 9 member 3), що, в першу чергу, відповідає за підтримання балансу натрію, більшою мірою, в апікальних мембранах ворсинок кишечника [8, 10].

Ген *Snn1b* кодує  $\beta$  субодиницю електрогенного епітеліального конститутивно активного мембранозв'язаного натрієвого каналу – ENaC (також відомий як натрієвий не нейрональний канал 1 (SCNN1), або амilorид-чутливий натрієвий канал (ASSC)), який проникний, в основному, для протонів,  $Li^+$  і особливо для іонів  $Na^+$ ; також представлений більшою мірою в апікальних мембранах ворсинок кишечника [9, 11]. Показано зміну експресії *Snn1b* та *Slc9a3* при муковісцидозі, виразковому коліті, запальній хворобі кишечника (IBD) тощо, як у людини, так і в тварин [8, 12].

Для корекції структурно-функціональних порушень у ШКТ використовують пробіотичні препарати, які виконують важливу роль у підтриманні загального гомеостазу організму за рахунок оптимізації його мікроекологічного статусу [13, 14]. Препарати групи "Симбітер® ацидофі-

льний" концентрований (далі Симбітер) є максимально наближеною до природних мікробіоценозів організму людини та тварин концентрованою біомасою живих клітин мультикомпонентного симбіозу пробіотичних бактерій (*Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii*, *P. acidipropionici*, *Lactococcus lactis*, *Acetobacter acetii*, *Streptococcus salivarius*) [13, 14].

На сьогодні, мало що відомо про можливу роль аномалій у транспорті електролітів у патогенезі діареї, пов'язаної з дисбіотичними змінами внаслідок дії тривалої гіпохлоридрії. Тому метою роботи було проаналізувати експресію генів *Cftr*, *Slc9a3*, *Snn1* в епітеліоцитах ДПК щурів за довготривалого пригнічення кислотоутворення в шлунку та при введенні мультипробіотичного препарату.

**Об'єкт та методи досліджень.** У дослідженні використовували білих нелінійних статевозрілих щурів-самців з 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 про захист хребетних тварин, що використовуються для наукових експериментів або в інших наукових цілях".

Тварин розділяли на чотири групи. У контрольній (першій) групі використовували щурів, яким протягом 28 діб вводили інтраперитонеально 0,2 мл та перорально 0,5 мл води для ін'єкцій. Тварини другої групи протягом 28 діб перорально отримували Симбітер (виробництва ТОВ "О.Д. Пролісок") у дозі 0,14 мл/кг, розчинений у 0,5 мл води для ін'єкцій. Моделювання гіпоацидного стану (третья група) проводили за допомогою внутрішньочеревного введення 14 мг/кг омепразолу 1 раз на добу протягом 28 діб [15]. Четверта група щурів одночасно з інтраперитонеальним введенням омепразолу перорально отримувала Симбітер у вищезазначеній дозі. Кількість тварин у кожній експериментальній групі – 6. Концентрацію органічних гідропероксидів вимірювали в системі сорбітол – ксилінол помаранчевий [16]. Вміст загального білка визначали за методом Лоурі [17].

Епітеліоцити ворсинок та крипт із ДПК ізолювали за допомогою низькотемпературного методу [18]. РНК отримували за методом Chomczynski [19]; Синтез кДНК та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (Real-time PCR, кПЛР) за допомогою комерційного набору "Thermo Scientific Verso SYBR Green 1-Step qRT-PCR ROX Mix" ("Thermo Scientific", Литва), використовуючи по 0,4 мкмоль/л кожного праймера, проводили за таких, рекомендованих фірмою-виробником, температурних умов: синтез кДНК 50°C – 30 хв; ініціююча денатурація 95°C – 15 хв; далі 40 циклів: денатурація ДНК 95°C – 15 с; гібридизація праймерів 50°C – 35 с; добування ланцюга 72°C – 30 с.; елонгація ампліфікатів 72°C – 5 хв.

У реакціях було використано такі послідовності праймерів: для *Cftr* – прямий –

ACTCTTCTTCAGCTGGACCACACCA та зворотний – AAAGCATCGCCGGAGGGCGT; *Slc9a3* – прямий – CCTGATGGGCGAACTGAAGA та зворотний – GCAGTGACTCCCCAAAACA; для *Snn1b* – прямий – ATTCCAGCCCCTTCCAGTAC та зворотний – GGGTACTGGTGGTGTGGT; для для *Actb* (ген  $\beta$ -актину, що використовується в якості внутрішнього контролю реакції завдяки конститутивній експресії) – прямий – TGGGACGATATGGAGAAGAT та зворотний – ATTGCCGATAGTGATGACCT. Відтворюваність результатів ампліфікації було перевірено в паралельних експериментах шляхом повторення кПЛР на зразках РНК усіх тварин, із кожним праймером не менше трьох разів. Після кожного циклу ампліфікації зчитувалась флуоресценція барвника SYBR Green I, а по закінченні реакції будувалась крива плавлення для контролю утворення димерів праймерів та специфічності реакції. Початкову кількість мРНК обраховували за порівняльним  $C_T$  методом "ΔΔC<sub>T</sub> Method", ефективність ПЛР реакцій була однаковою ( $E_x = (10^{-1/\text{slope}})^{-1}$ ,  $\text{slope} < 0,1$  [20]). Відносну кількість мРНК зазначених генів нормалізували до мРНК *Actb*.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили 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  $\pm$  середньоквадратичне відхилення (дисперсія) – SD. Результати вважали значущими, коли  $p \leq 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** З'ясовано, що за умов тривалої шлункової гіпохлоридрії в епітеліальних клітинах ДПК вміст органічних гідропероксидів зростає: в епітеліоцитах ворсинок – в 1,5 раза ( $p \leq 0,001$ ), в епітеліоцитах крипт – в 1,4 раза ( $p \leq 0,001$ ) відносно контролю. Збільшення рівня пероксиду гідрогену може бути наслідком гіпоксії та розвитку запалення у ДПК, яке супроводжується посиленням процесів утворення вільних радикалів [6, 21]. При сумісному введенні мультипробіотика Симбітер щурам із гіпоацидним станом зазначений показник знижувався в 1,4 раза ( $p \leq 0,001$ ) в обох групах дуоденальних клітин відносно групи тварин, яким вводили омепразол. Це свідчить про зменшення запальних процесів у ДПК за рахунок протимікробної та антиоксидантної дії мультипробіотика Симбітер [7, 13, 14, 21]. Таким чином, на першому етапі дослідження показано інтенсифікацію прооксидантного фактору в клітинах ДПК за гіпоацидних умов та показано його пригнічення за умов введення мультипробіотика.

У результаті проведених нами експериментальних досліджень було показано, що рівні експресії гена *Cftr* в контрольній та другій групі епітеліоцитів крипт значуще не відрізнялися, так само як і у ворсинках. За умов тривалого пригнічення кислотопродукуючої функції шлунка щурів цей показник був вищим: в епітеліоцитах ворсинок – у 2,3 раза ( $p \leq 0,0001$ ), в епітеліоцитах крипт – у 2,4 раза ( $p \leq 0,0001$ ) відносно контролю. Рівень мРНК гена *Cftr* в епітелії ворсинок ДПК щурів, які разом з омепразолом отримували мультипробіотик, був в 1,6 раза нижчим ( $p \leq 0,0001$ ) ніж у тварин третьої групи. За аналогічних умов зазначений показник у клітинах епітелію крипт знизився в 1,4 раза ( $p \leq 0,001$ ) по відношенню до показників групи з гіпоацидним станом шлунка та лишився підвищеним в 1,7 раза ( $p \leq 0,001$ ) відносно контролю (рис. 1.).

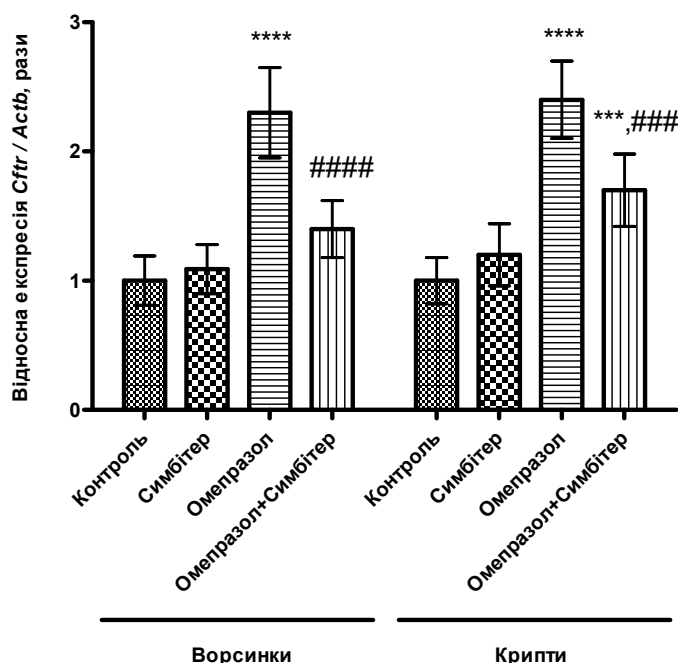


Рис. 1. Рівень експресії мРНК гена *Cftr* в різних типах епітеліальних клітин дванадцятипалої кишки щурів за умов тривалої гіпоацидності та при введенні мультипробіотика.

\*\*\*\* –  $p \leq 0,0001$ , \*\*\* –  $p \leq 0,001$  відносно контролю; #### –  $p \leq 0,0001$ ,  
 ### –  $p \leq 0,001$  відносно тварин, яким вводили лише омепразол

Дослідження характеру експресії гена *Slc9a3* показало, що рівні його експресії в контрольній та другій групі епітеліоцитів крипт значуще не відрізнялися, так

само як і у ворсинках. За умов гіпоацидності шлунка цей показник був вищим: в епітеліоцитах ворсинок – в 1,6 раза ( $p \leq 0,0001$ ), в епітеліоцитах крипт – в 1,4 раза

( $p \leq 0,01$ ) відносно контролю. Рівень мРНК зазначеного гена в епітелії як ворсинок, так і крипт ДПК шурів четве-

ртої групи був в 1,3 раза нижчим ніж у тварин третьої групи ( $p \leq 0,05$ ) (рис. 2.).

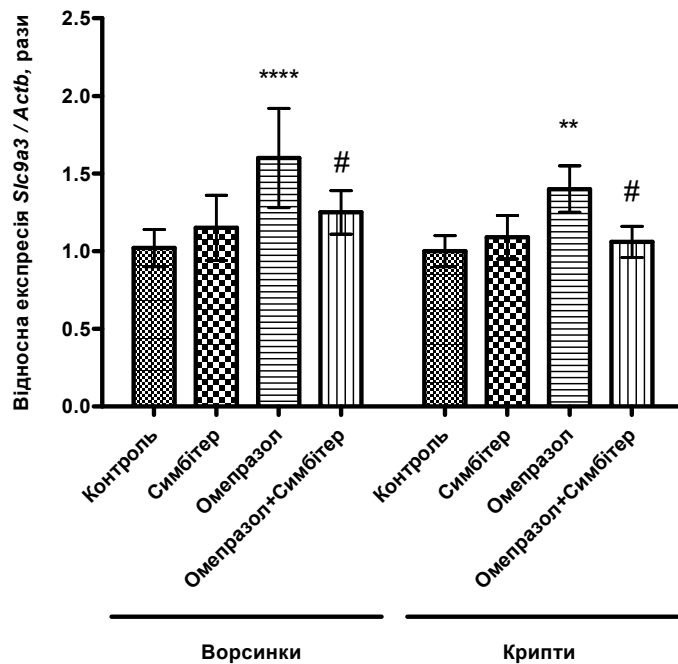


Рис. 2. Рівень експресії мРНК гена *Slc9a3* в різних типах епітеліальних клітин дванадцятипалої кишки шурів за умов тривалої гіпоацидності та при введенні мультипробіотика.

\*\*\*\* –  $p \leq 0,0001$ , \*\* –  $p \leq 0,01$  відносно контролю;  
# –  $p \leq 0,05$  відносно тварин, яким вводили лише омепразол

Нами було виявлено, що рівні експресії гена *Snn1b* в контрольній та другій групі епітеліоцитів крипт і ворсинок значуще не відрізнялися, так само як було показано для *Cfr* та *Slc9a3*. За умов тривалого пригнічення кислотопродуруючої функції шлунка шурів цей показник знижувався: в 2 раза в епітеліоцитах ворсинок ( $p \leq 0,0001$ ) і в 1,9 раза в криптах ( $p \leq 0,0001$ ) відносно контролю. Рівень мРНК гена *Snn1b* в епітелії ворсинок ДПК

шурів, які разом з омепразолом отримували мультипробіотик, повертався до контрольних значень у порівнянні з тваринами третьої групи ( $p \leq 0,0001$ ). За аналогічних умов зазначений показник у криптах зростав в 1,6 раза ( $p \leq 0,01$ ) по відношенню до показників групи з гіпоацидним станом шлунка та лишався зменшеним в 1,3 раза ( $p \leq 0,05$ ) відносно контролю (рис. 3.).

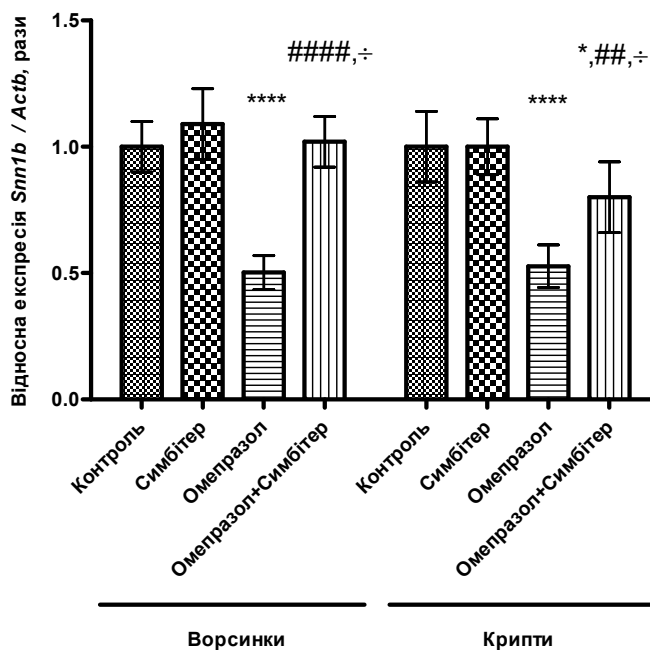


Рис. 3. Рівень експресії мРНК гена *Snn1b* в різних типах епітеліальних клітин дванадцятипалої кишки шурів за умов тривалої гіпоацидності та при введенні мультипробіотика.

\*\*\*\* –  $p \leq 0,0001$ , \* –  $p \leq 0,05$  відносно контролю;  
#### –  $p \leq 0,0001$ , ## –  $p \leq 0,01$  відносно тварин, яким вводили лише омепразол; ÷ –  $p \leq 0,05$  ворсинки порівняно з криптами.

Порушення у всмоктуванні NaCl та води є характерною ознакою запалення в слизовій кишечниці й призводять до діареї [4, 8, 9]. Супутні механізми останньої можуть поєднувати активування секреції, зменшення поглинання та дефекти бар'єрної функції епітелію [22]. Хоча CFTR відіграє вирішальну роль у регуляції електролітного гомеостазу, не так багато відомо про експресію його гена в слизовій оболонці кишечниці при запаленні. Показано підвищення як експресії *Cftr*, так і цАМФ – залежної секреції іонів Cl<sup>-</sup>, а також опосередковані впливом CFTR інгібування реабсорбції Na<sup>+</sup> й активування Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> – транспортеру SLC26A3 (кодується геном *Slc26a3*) при різних патологічних станах у ШКТ тощо [8, 9, 23]. Таким чином, гіперекспресія *Cftr* може призвести як до підвищеної секреції іонів хлору, так і до зниження поглинання іонів натрію в слизовій оболонці, і в кінцевому рахунку сприятиме діареї, наприклад, при дії бактеріальних ентеротоксинів [8]. Нами було проаналізовано вплив тривалої шлункової гіпоацидності на експресію головних генів транспортерів електролітів, які відповідають за розподіл NaCl і води у кишечнику. У нашій роботі було показано вірогідне зростання експресії *Slc9a3* за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії і за підвищеної експресії *Cftr*, що може свідчити про порушення в поглинанні Na<sup>+</sup> ворсинками та криптами епітелію ДПК, і можна співставити з роботами, де продемонстровано *Cftr*-індуковану експресію мРНК гена *Slc9a3* [8, 23].

У хребетних канали ENaC контролюють реабсорбцію натрію в нирках, товстій кишці. При муковісцидозі, коли CFTR не функціонує, показано гіперекспресію *Snn1b*, що призводить до подальшого зменшення секреції солі й води за рахунок підвищеної реабсорбції Na<sup>+</sup> [9, 12]. Нами показано вірогідне зменшення експресії гена *Snn1b* за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії й на тлі підвищеної експресії *Cftr*, що може свідчити про зниження реабсорбції іонів натрію в епітелію ДПК. Таким чином, CFTR може відігравати важливу роль у патогенезі діареї, асоційованої із запаленням, шляхом зміни функцій та властивостей Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> – каналів, Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> – транспортеру SLC26A3, NHE3, ENaC, зміни в секреції слизу й поглинанні води [8, 9, 23].

У той же час у деяких дослідженнях на різних моделях запалення отримано неоднозначні результати й запропоновано, що так як порушення у всмоктуванні Na<sup>+</sup> і Cl<sup>-</sup> асоційовані зі зменшенням різниці електричних потенціалів та активності Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-ази клітини, функціонування якої є також необхідною для апікальної секреції Cl<sup>-</sup> [23], можна припустити, що аномалії в поглинанні іонів натрію та хлору більшою мірою, ніж у секреції іонів хлору, є первинними, а порушення в поглинанні води – вторинними в патогенезі діареї [8, 9, 23].

Отже, встановлені зміни експресії генів *Cftr*, *Snn1b*, *Slc9a3* в епітелію ворсинок та крипт за умов тривалої шлункової гіпоацидності свідчать про розвиток патологічних процесів у тканині ДПК, зокрема запалення та діареї внаслідок збільшення трансепітеліальної секреції іонів хлору та пригнічення епітеліального всмоктування NaCl. При цьому продемонстровано ключову роль саме дисбіозу травного тракту в ініціації пошкодження епітелію та визначено, що до біохімічних механізмів ушкодження ДПК за умов тривалої шлункової гіпоацидності залучається інтенсифікація прооксидантного фактору, що посилюється за цих умов, та експресія генів *Cftr*, *Snn1b*, *Slc9a3*, рівень якої зростає у відповідь на патогенну мікрофлору. Нормалізація експресії проаналізованих генів при застосуванні мультипробіотичного препарату також свідчить про істотний внесок дисбіотичних порушень у патологічні процеси, що відбуваються в епітелію ДПК за умов тривалої

гіпохлоргідрії. Стосовно можливих механізмів впливу мультипробіотика Симбітер на експресію генів у ДПК, перш за все, слід зазначити його здатність елімінувати бактеріальну колонізацію ШКТ та дисбіоз [7, 13, 14]. Ефективність дії досліджуваного препарату пов'язана з широким спектром його біологічної активності (продукти життєдіяльності бактеріальних штамів, представлених в препараті Симбітер: коротколанцюгові жирні кислоти, вітаміни тощо володіють антиоксидантними властивостями, завдяки чому вони здатні гальмувати розвиток ОС та знижувати інтенсивність запальних і деструктивних процесів у ШКТ й асоційованих органах) та високим рівнем безпечності для організму [7, 14-16, 21].

**Висновки.** Показано, що тривале експериментальне пригнічення кислотної секреції шлунка супроводжується зміною експресії генів *Cftr*, *Snn1b*, *Slc9a3* в епітелію ворсинок та крипт. При введенні мультипробіотика Симбітер за тих самих умов рівень експресії цих генів в епітелію ворсинок і крипт наближався до контрольних значень. Отримані дані можуть свідчити про залучення цих головних медіаторів транспорту електролітів у патогенез діареї при розвитку запального процесу в ДПК, обумовленого дисбіотичними змінами за умов тривалої гіпохлоргідрії.

#### Список використаних джерел.

- Shin J. Molecular mechanisms in therapy of acid-related diseases / J. Shin, O. Vagin, K. Munson [et al.] // Cell and molecular life sciences. – 2008. – Vol. 65, N 2. – P.264-281. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Sundstrom A. Acid-suppressing drugs and gastroesophageal reflux disease as risk factors for acute pancreatitis – results from a Swedish Case-Control Study / A. Sundstrom, K. Blomgren, L. Alfredson [et al.] // Pharmacoeconomics and drug safety. – 2006. – Vol. 15, N 3. – P.141-149. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Johnson D. A. Reported side effects and complications of long-term proton pump inhibitor use / D. A. Johnson, EC Oldfield IV // Clinical gastroenterology and hepatology. – 2013. – Vol. 11 – P.458-464. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Barrett K. Physiology of the gastrointestinal tract. 4th edition / K. Barrett, F. Ghishan, J. Merchant [et al.]. – New York : Academic Press, 2006. – 2080 p. Available from: <http://www.sciencedirect.com>
- Thomson A. Safety of long-term use of proton pump inhibitors / A. Thomson, M. Sauve, N. Kassam [et al.] // World journal of gastroenterology. – 2010. – Vol. 16, N 19. – P.2323-2330. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Zhang R. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation / R. Zhang, M. L. Brennan, Z. Shen [et al.] // The journal of biological chemistry. – 2002. – Vol. 277. – P.46116-46122. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Дворченко К.О. Вплив окисного стресу на рівень експресії генів TGF-β і HGF у печінці щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії та за введення мультипробіотика Симбітер / К.О. Дворченко, О.О. Берник, А.С. Драничина [та ін.] // Український біохімічний журнал. – 2013. – Т. 85, №5. – С. 114-123.
- Lohi H. Upregulation of CFTR expression but not SLC26A3 and SLC9A3 in ulcerative colitis / H. Lohi, S. Mäkelä, K. Pulkkinen [et al.] // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2002. – Vol. 283 – P. G567-G575. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Kunzelmann K. Electrolyte transport in the mammalian colon: mechanisms and implications for disease / K. Kunzelmann, M. Mall. // Physiol Rev. – 2002. – Vol. 82 – P. 245-289. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Spencer A. G. Intestinal inhibition of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger 3 prevents cardiorenal damage in rats and inhibits Na<sup>+</sup> uptake in humans / Spencer A. G., Labonte E. D., Rosenbaum D. P. [et al.] // Sci Transl Med. – 2014. – Vol. 6, N 227. – P. 227-36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Mall M. Increased airway epithelial Na<sup>+</sup> absorption produces cystic fibrosis-like lung disease in mice / M. Mall, B. R. Grubb, J. R. Harkema [et al.] // Nature Medicine. – 2004. – Vol. 10, N 5. – P. 487-493. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Toczyłowska-Mamińska R. Ion transporting proteins of human bronchial epithelium / R. Toczyłowska-Mamińska, K. Dolowy // Journal of Cellular Biochemistry. – 2012. – Vol. 113, N 2. – P. 426-432. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Culligan E. Probiotics and gastrointestinal disease: successes, problems and future prospects / E. Culligan, C. Hill, R. Sleator // Gut pathogens. – 2009. – Vol. 1, N 19. – P. 38-49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Iankovsky D. Microbiota and human health / D. Iankovsky, G. Dymant. – Kyiv: LLC Chervona Ruta-Turs, 2008. – 552 p.

15. Tsyriuk O. I. Effect of omeprazole-induced hypergastrinemia on the basal gastric secretion in rats / O.I. Tsyriuk, T.V. Beregova // Bulletin of biological and medical issues. – 2007. – N 3. – P.38-43. Available from: <http://www.irbis-nbuv.gov.ua>

16. Flint N. A low-temperature method for the isolation of small-intestinal epithelium along the crypt-villus axis / N. Flint, F. L. Cove, G. S. H. Evans // Biochemical journal. – 1991. – Vol. 280 (Pt 2). – P.331–334. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

17. Jiang Z.-Y. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation / Z.-Y. Jiang, A. C. Woollard, S. P. Wolff // FEBS Lett. – 1990. – Vol. 268, N 1. – P. 69-71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

18. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr [et al.] // The journal of biological chemistry. – 1951. – 193, N 1. – P. 265–275. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

19. Chomczynski P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // Analytical biochemistry. – 1987. – Vol. 162. – P.156-159. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

20. Hee Lee Won. Irradiation induces regionally specific alterations in proinflammatory environments in rat brain / Won Hee Lee, W. E. Sonntag, M. Mitschelen [et al.] // Int J Radiat Biol. – 2010. – Vol. 280, N 2. – P. 132–144. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

21. Lutgendorff F. Probiotics enhance pancreatic glutathione biosynthesis and reduce oxidative stress in experimental acute pancreatitis / F. Lutgendorff, L. M. Trullsson, L. P. van Minnen [et al.] // American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology. – 2008. – Vol. 295, N 5. – P. 1111-1121. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

22. Sandle G. I. Cellular basis for defective electrolyte transport in inflamed human colon / G. I Sandle, N. Higgs, P. Crowe [et al.] // Gastroenterology. – 1990. – Vol. 99 – P. 97–105. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

23. Jakab R. L. Physiological relevance of cell-specific distribution patterns of CFTR, NKCC1, NBCe1, and NHE3 along the crypt-villus axis in the intestine / R. L. Jakab, A. M. Collaco, N. A. Ameen // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2011. – Vol. 300, N 1. – P. G82-98. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

#### References

- Shin J, Vagin O, Munson K, Kidd M, Modlin IM, Sachs G. Molecular mechanisms in therapy of acid-related diseases. Cell Mol Life Sci. 2008;65(2):264-81. PubMed Central PMCID: PMC3081136.
- Sundstrom A, Blomgren K, Alfredsson L, Wiholm BE. Acid-suppressing drugs and gastroesophageal reflux disease as risk factors for acute pancreatitis – results from a Swedish Case-Control Study. Pharmacoepidemiol Drug Saf. 2006;15(3):141-9. PubMed PMID: 16200654.
- Johnson DA, Oldfield EC IV. Reported side effects and complications of long-term proton pump inhibitor use. Clin Gastroenterol Hepatol. 2013;11:458-64. PubMed PMID: 23247326.
- Barrett K, Ghishan F, Merchant J, Said HM, Wood JD. Physiology of the gastrointestinal tract. 4th ed. New York: Academic Press; 2006. 2080 p.
- Thomson A, Sauve M, Kassam N, Kamitakahara H. Safety of long-term use of proton pump inhibitors World J Gastroenterol. 2010;16(19):2323-30. PubMed PMID: 20480516.
- Zhang R, Brennan ML, Shen Z, MacPherson JC, Schmitt D, Molenda CE, et al. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. J Biol Chem. 2002;277:46116–22. PubMed PMID: 12359714.

7. Dvorchshenko K, Bernyk O, Dranitsina A, Senin S, Ostapchenko L. Vplyv oksynogo stresu na riven ekspessii geniv TGF- $\beta$  i HGF u pechini schuriv v umovah trivaloi shlunkovoi hipohlorhidrii ta za vvedennya multiprobiotika Symbiter. Ukr Biochem J. 2013;85(5):114-23. Ukrainian.

8. Lohi H, Mäkelä S, Pulkkinen K, Höglund P, Karjalainen-Lindsberg ML, Puolakkainen P, et al. Upregulation of CFTR expression but not SLC26A3 and SLC9A3 in ulcerative colitis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002;283(3):G567-75. PubMed PMID: 12181169.

9. Kunzelmann K, Mall M. Electrolyte transport in the mammalian colon: mechanisms and implications for disease. Physiol Rev. 2002;82:245–89. PubMed PMID: 11773614.

10. Spencer AG, Labonte ED, Rosenbaum DP, Plato CF, Carreras CW, Leadbetter MR, et al. Intestinal inhibition of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger 3 prevents cardiorenal damage in rats and inhibits Na<sup>+</sup> uptake in humans. Sci Transl Med. 2014;6(227):227-36. PubMed PMID: 24622516.

11. Mall M, Grubb BR, Harkema JR, O'Neal WK, Boucher RC. Increased airway epithelial Na<sup>+</sup> absorption produces cystic fibrosis-like lung disease in mice. Nat Med. 2004;10(5):487–93. PubMed PMID: 15077107.

12. Toczyłowska-Mamińska R, Dołowy K. Ion transporting proteins of human bronchial epithelium / R. Toczyłowska-Mamińska. J Cell Biochem. 2012;113(2):426–432. PubMed PMID: 21975871.

13. Culligan E, Hill C, Sleator R. Probiotics and gastrointestinal disease: successes, problems and future prospects. Gut Pathog. 2009;1(19):38-49. PubMed PMID: 19930635.

14. Iankovsky D. Microbiota and human health / D. Iankovsky, G. Dymant. – Kyiv : LLC Chervona Ruta-Turs, 2008. – 552 p.

15. Tsyriuk OI, Beregova TV. Vplyv omeprazole-vyklikanoi uipergastrinemii na shkunkovu sekreciyu u schuriv. Visnik problem biologii i medicine. 2007;3:38-43. Ukrainian.

16. Flint N, Cove FL, Evans GS. A low-temperature method for the isolation of small-intestinal epithelium along the crypt-villus axis. Biochem J. 1991;280(Pt 2):331-4. PubMed PMID: 1747105.

17. Jiang ZY, Woollard AC, Wolff SP. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation. FEBS Lett. 1990;268(1):69-71. PubMed PMID: 2384174.

18. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193(1):265-75. PubMed PMID: 14907713.

19. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction. Anal Biochem. 1987;162(1):156-9. PubMed PMID: 2440339.

20. Hee Lee Won, Sonntag WE, Mitschelen M, Yan Han, Lee Yong Woo. Irradiation induces regionally specific alterations in proinflammatory environments in rat brain. Int J Radiat Biol. 2010;280(2):132–44. PubMed Central PMCID: PMC2827151.

21. Lutgendorff F, Trullsson LM, van Minnen LP, Rijkers GT, Timmerman HM, Franzén LE. Probiotics enhance pancreatic glutathione biosynthesis and reduce oxidative stress in experimental acute pancreatitis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008;295(5):G1111-21. PubMed PMID: 18832452.

22. Sandle GI, Higgs N, Crowe P, Marsh MN, Venkatesan S, Peters TJ. Cellular basis for defective electrolyte transport in inflamed human colon. Gastroenterology. 1990;99(1):97-105. PubMed PMID: 2344946.

23. Jakab RL, Collaco AM, Ameen NA. Physiological relevance of cell-specific distribution patterns of CFTR, NKCC1, NBCe1, and NHE3 along the crypt-villus axis in the intestine. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2011;300(1):G82-98. PubMed PMID: 21030607.

Надійшла до редколегії 16.02.16

A. Драницина канд. биол.наук., Е. Дворченко д-р. биол. наук., Д. Гребиньк канд. биол. наук.,Л. Остапченко д-р. биол.наук  
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

### ЕКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *Cftr*, *Snn1b* и *Slc9a3* В ЭПИТЕЛИОЦИТАХ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ КРЫС ДЛИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛУДОЧНОЙ ГИПОХЛОРИДИИ И ПРИ ВВЕДЕНИИ МУЛЬТИПРОБИОТИКА

Показано увеличение уровня экспрессии генов *Cftr*, *Slc9a3* и уменьшение уровня мРНК гена *Snn1b* в эпителиоцитах ворсинок и крипт двенадцатиперстной кишки крыс на фоне интенсификации процессов образования свободных радикалов в гипоацидных условиях. При введении мультипробиотика Симбитер в тех же условиях уровень экспрессии данных генов в эпителиоцитах ворсинок и крипт приближался к контрольным значениям.

Ключевые слова: желудочная гипохлоридрия, двенадцатиперстная кишка, экспрессия гена, *Cftr*, *Slc9a3*, *Snn1b*, мультипробиотик.

A. Dranitsina PhD., K. Dvorchshenko DSc., D. Grebinyk PhD., L. Ostapchenko DSc.  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

### EXPRESSION OF CFTR, SNN1B AND SLC9A3 GENES IN RAT DUODENAL UPON LONG-TERM GASTRIC HYPOCHLORHYDRIA AND WITH ADMINISTRATION OF MULTIPROBIOTIC

The increasing of *Cftr*, *Slc9a3* and the decreasing of *Snn1b* gene's expression in rat duodenal villus and crypt epithelial cells against the background of intensification of free radical formation upon gastric hypoacidic conditions were shown. The level of above mentioned gene's expression both in villus and crypt epitheliocytes approached to the control value upon the treatment of hypoacidic rats with multiprobiotic Symbiter.

Key words: gastric hypoacidity, duodenal, gene expression, *Cftr*, *Slc9a3*, *Snn1b*, multiprobiotic.