

Труды IX Международной крымской конференции «Космос и биосфера 2011»
При цитировании или перепечатывании ссылка обязательна.

Адрес этой статьи в интернете: www.biophys.ru/archive/crimea2011/abstr-p215.pdf

**ПРОДУКЦИЯ ИНТЕРФЕРОНА И АКТИВНОСТЬ 2',5'-ОЛИГОАДЕНИЛАТ-СИНТЕАЗЫ В
ЛИМФОЦИТАХ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС С ГИПОАЦИДНОСТЬЮ, ВЫЗВАННОЙ
ОМЕПРАЗОЛОМ, И ПРИ ВВЕДЕНИИ МУЛЬТИПРОБИОТИКА «СИМБИТЕР®
АЦИДОФИЛЬНЫЙ» КОНЦЕНТРИРОВАННЫЙ**

Береговая Т.В., Компанец И.В., Остапченко Л.И., Пулипенко С.В., Янковский Д.С.

"Образовательно-научный центр "Институт биологии" Киевского национального университета имени
Тараса Шевченко

Желудочная гипоацидность – это состояние, которое характеризуется пониженной секрецией соляной кислоты и может быть смоделировано длительным ведением ингибиторов H^+-K^+ -АТФазы. Снижение pH желудочного сока приводит к развитию дисбиоза и усилению продукции гастрина G-клетками антрального отдела желудка. В результате в слизистой оболочке желудка развивается воспаление, которое сопровождается секрецией провоспалительных цитокинов [Kang, 2005]. Для нормализации микробиоценоза и предотвращения структурно-функциональных изменений в желудке, вызванных гипоацидностью, используют мультипробиотики. Остается недостаточно изучена роль цитокинов в процессах, которые происходят в иммунной системе в условиях гипоацидности. На особенное внимание заслуживают интерфероны (ИФН) - цитокины, которые осуществляют широкий спектр эффектов на клеточный метаболизм: защиту от вирусов и микроорганизмов, антипролиферативное и иммуномодулирующее действие [Content, 2009]. ИФН I типа индуцирует в клетках систему трансдукции сигнала, ключевым ферментом

которой является 2',5'-олигоаденилат-синтетаза (2',5'-ОАС), а вторичным посредником - 2',5'-олигоаденилат [Такаока, 2006]. Поскольку существуют данные об усилении секреции ИФН лимфоцитами слизистой желудка в условиях гипоацидности [Kang, 2005], следует ожидать изменений его продукции клетками лимфоидных органов.

Целью данной работы было исследовать продукцию интерферона лимфоцитами селезенки у крыс и активность 2',5'-ОАС в этих клетках в условиях гипоацидности желудочного сока, вызванной 28-ми дневным введением омепразола (ОМ), а также при одновременном введении ОМ и мультипробиотика «Симбитер® ацидофильный» концентрированный (СИМ).

Исследования проведены на белых нелинейных крысах-самцах весом 170-200 г, которые были разделены на 4 группы. Животным 1-й группы (контроль) в течении 28 дней вводили внутривенно (в/в) 0,2 мл воды для инъекций. Животным 2-й группы в течении 28 дней перорально (п/о) вводили СИМ. Животным 3-й группы в течении 28 дней в/в вводили ОМ («Омез®» производства «Dr.Reddy's», Индия) (14 мг/кг, растворенный в 0,2 мл воды). Животным 4-й группы в течении 28 дней одновременно с ОМ вводили СИМ в дозах, указанных выше. Через день после последнего введения препаратов крыс умерщвляли и выделяли лимфоциты селезенки [Boyum, 1968]. Для индукции ИФН спленоциты ($5 \cdot 10^6$ клеток/мл) инкубировали *in vitro* в течении 24 часов при температуре 37°C. Отдельно клетки каждой группы крыс инкубировали с индукторами ИФН: ФГА (20 мкг/мл) («SIGMA-Aldrich», USA) и циклофероном (50 мкг/мл) («Полисан», Россия). Суспензии клеток центрифугировали при скорости 200 g в течении 5 мин. В супернатантах определяли титр ИФН микрометодом по угнетению цитопатогенного действия вируса везикулярного стоматита на перевитую культуру фибробластов крыс [Nikolskaya, 2001]. В суспензиях спленоцитов (осадок) определяли активность 2',5'-ОАС спектрофотометрическим методом. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью критерия Стьюдента.

В результате проведенных исследований установлено повышение титра спонтанного ИФН в супернатантах клеточных культур, которым в течении 28 дней вводили ОМ. Введение здоровым крысам СИМ в течении 28 дней приводило к повышению этого показателя на 42%. При совместном введении ОМ и СИМ титр спонтанного ИФН был на уровне контрольных значений. Усиление индуцированной ФГА и циклофероном продукции ИФН было более выраженным при совместном действии ОМ и СИМ, чем при действии только ОМ. Активность 2',5'-ОАС в спленоцитах крыс после 28-дневного введения ОМ снижалась на 16%, а при одновременном введении ОМ и СИМ она была близкой к значениям, зафиксированным в группе крыс, которым вводили ОМ. 28-дневное введение крысам СИМ не влияло на активность 2',5'-ОАС в спленоцитах. Прирост активности 2',5'-ОАС в клетках, инкубированных с ФГА и циклофероном, был самым большим в группе крыс, которым одновременно вводили ОМ и СИМ.

Усиление секреции спонтанного и индуцированного ИФН лимфоцитами селезенки и понижение активности 2',5'-ОАС в спленоцитах, очевидно, является их реакцией на воспалительный процесс в желудке, вызванный его бактериальной колонизацией, а также на повышение уровня гастрина в крови. Так как при действии СИМ уровень ИФН повышается у здоровых животных и нормализуется у крыс с гипоацидностью желудочного сока, можно предположить, что данный пробиотический препарат, нормализуя микрофлору желудка, приводит к угнетению воспаления, что влияет на функционирование лимфоидных органов. Это дает основания рассматривать СИМ как средство с иммуномодулирующими свойствами.

Понижение активности 2',5'-ОАС в спленоцитах крыс наряду с возрастанием продукции этими клетками ИФН может быть следствием того, что в ИФН-индуцированной сигнальной системе нарушается передача сигнала, как на этапах взаимодействия ИФН с рецептором, так и стимуляции экспрессии гена 2',5'-ОАС.

THE INTERFERON PRODUCTION AND 2',5'-OLIGOADENYLATE-SYNTHETASE ACTIVITY IN SPLEEN LYMPHOCYTES IN RATS WITH HYPOACIDITY EVOKED BY OMEPRAZOLE AND AT ADMINISTRATION OF MULTIPROBIOTIC «SYMBITER® ACIDOPHILIC» CONCENTRATED

Beregova T.V., Kompanets I.V., Ostapchenko L.I., Pilipenko S.V., Yankovskiy D.S.

Educational and Scientific Centre "Institute of Biology" of Taras Shevchenko National University of Kyiv

Gastric hypoacidity is characterized by decreased hydrochloric acid secretion and may be modeled by long-term injection of gastric parietal cells H^+-K^+ -ATPase inhibitors. Decrease of gastric juice pH leads to disbacteriosis development and increase of gastrin production by G-cells of antrum. As a result in gastric mucosa the inflammation which is accompanied by secretion proinflammatory cytokines develops [Kang, 2005]. The probiotics are used for the purpose of microbiocenosis normalization and prevention of structurally-functional changes in stomach caused by hypoacidity. The role of cytokines in processes that occur in immune system at the background of hypoacidity isn't clarified yet. On especial attention deserve interferons (IFN) - cytokines which carry out a wide spectrum of effects on a cellular metabolism: protection against viruses and microorganisms, antiproliferative and immunomodulatory action [Content, 2009]. Type I IFN induces in cells 2',5'-oligoadenylate signaling pathway. The 2',5'-oligoadenylate-synthetase (2',5'-OAS) is it's key enzyme [Takaoka, 2006]. So far as the augmentation of IFN secretion by stomach mucous lymphocytes was established at hypoacidity [Kang, 2005] the changes of its production by lymphoid organs are expected.

The aim of this work was to study the interferon production by rat spleen lymphocytes and 2',5'-OAS activity in these cells at hypoacidity caused by 28-daily omeprazole (OM) injection as well as simultaneous omeprazole and multiprobiotic «Symbiter® acidophilic» concentrated (SYM) administration.

The research was conducted on white nonlinear rats (males) weighing 170-200 g which were divided into 4 groups. Animals of the 1st group (control) were intraperitoneally (i.p.) injected with 0,2 ml of H_2O . Animals of the 2nd group were orally (p/o) introduced with SYM during 28 days. Animals of the 3rd group were injected with OM (14 mg/kg, diluted in 0,2 ml of H_2O) («Omez®» "Dr.Reddy's", India). Animals of the 4th group were simultaneous injected with OM and SYM at referred above doses.

In a day after last injection of drugs rats have been destroyed, spleen lymphocytes were isolated [Boyum, 1968]. Spleenocytes ($5 \cdot 10^6$ cells / ml) were incubated *in vitro* during 24 h at 37°C for IFN induction. Cells of each group of animals were separately incubated with IFN inducers: PGA ("SIGMA-Aldrich", USA) (20 mkg/ml) and cycloferon ("Polisan", Russia) (50 mkg/ml). Cell suspensions were centrifuged at 200 g for 5 min. The IFN titer was evaluated by micromethod [Nikolskaya, 2001]. The 2',5'-OAS activity was estimated by method [Justensen, 1992]. The statistical evaluation was calculated by Student's t-test.

The spontaneous IFN titer was established at over 2.5 times the control in supernatants of spleen lymphocytes cell cultures of rats that were injected with OM during 28 days. The SYM administration to animals caused the growth of this rate by 42 %. The spontaneous IFN titer turned up to the control level at combined OM and SYM administration. The enhancement of IFN production induced by PGA and cycloferon was more expressed at common OM and SYM action than at OM action only.

The 2',5'-OAS activity in 3 group rat spleenocytes decreased by 16 % after 28 daily OM injection and approximated to 3 group values at combined OM and SYM administration (table 2). The SYM administration to control group animals hadn't an influence on enzyme activity. The 2',5'-OAS activity acceleration in cells incubated with PGA and cycloferon was maximal at simultaneous OM and SYM administration by comparison with the group of rats which were treated only by OM.

The secretion of spontaneous and induced IFN by rat spleen lymphocytes was shown to increase at hypoacidity caused by 28-daily OM action. Probably the IFN synthesis is stimulated in these cells that may be their response to stomach inflammation evoked by bacterial colonization. It correlates with facts about IFN- γ induction that occurs owing to bacterial lipopolysaccharide interaction with lymphocyte Toll-like receptors [Uematsu, 2007]. It was also established that IFN- γ synthesis is amplified in stomach mucous lymphocytes of by inflammation in consequence of reduced hydrochloric acid secretion [Kang, 2005]. Spleen is extremely sensitive to organism

immunological status changes. Therefore the functional state of this lymphoid organ can be changed under the influence inflammation processes that are initiated by nonshared antigens at stomach disbacteriosis. Gastrin can also influence on IFN production by spleen lymphocytes, because its blood level rises by gastric hypoacidity [Waldum, 2002]. We have demonstrated that SYM leads to IFN level increase in healthy animals and it's normalization in hypoacidic ones. So, we suppose that this multirpobiotic brings to inhibition of inflammation via gastric microflora recovery, it has an effect on lymphoid organs functioning.

2',5'-activity in rat spleenocytes falls along with IFN production increase in conditions if hypoacidity. It may occur owing to IFN signaling pathway disfunction at the stages of IFN-receptor interaction or stimulation of 2',5'-OAS gene expression. Whereas omeprazole directly interacts with membrane proteins SH-groups [Capodicasa, 2008], the functional changes of cell membranes and intracellular signalization disturbances are quite possible.

The study of IFN system functioning in conditions of gastric hypoacidity is of a great importance for clarifying the mechanism of the immune system reaction on developing pathological process as well as for design of therapeutic and prophylactic preparations.
