

**ВПЛИВ АГОНІСТА 5-HT₄ РЕЦЕПТОРІВ (МОСАПРИДУ ЦИТРАТУ)
НА ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ, ПРОДУКЦІЮ ОКСИДУ НІТРОГЕНУ (II)
ТА МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОВСТОЇ КИШКИ
НА ТЛІ ВИРАЗКОВОГО КОЛІТУ**

Н. В. Денисенко, О. Я. Склярів
denysenko.natalka@gmail.com

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, Україна, zimenkovsky@meduniv.lviv.ua

Серотонін відіграє значну роль у регуляції функцій органів шлунково-кишкового тракту, зокрема і товстої кишки. Відомо, що майже весь серотонін в організмі людини синтезується та депонується в ентерохромафінних клітинах, які локалізовані у слизовій оболонці кишки. Реалізація впливу серотоніну на гладенькі м'язи, кровоносні судини та слизову оболонку товстої кишки здійснюється шляхом активації різних типів серотонінових рецепторів. Серед них значна роль належить 5-HT₄ рецепторам серотоніну, оскільки вони ідентифіковані на мембранах клітин товстої кишки (ентероцити, гладеньком'язові, ендотелій).

Для визначення ролі 5-HT₄ рецепторів серотоніну був використаний їх агоніст — мосаприду цитрат. Дослідження було проведено на нелінійних щурах обох статей, які були розподілені на 4 групи (перша — інтактні тварини, друга — тварини, яким вводили агоніст 5-HT₄ рецепторів серотоніну, третя — тварини, яким моделювався експериментальний коліт, четверта — тварини, яким вводили агоніст 5-HT₄ рецепторів серотоніну на тлі експериментального коліту). Коліт моделювали шляхом введення розчину оцтової кислоти у товсту кишку.

Експериментальний оцтовокислий коліт супроводжувався зростанням активності процесів ліпопероксидації, індукцельної NO-синтази, мілопероксидази, що викликає розвиток нітрозно-оксидативного стресу. Самостійна дія мосаприду не призводила до виражених морфологічних і біохімічних змін у слизовій оболонці товстої кишки. Активація 5-HT₄ серотонінових рецепторів мосапридом на тлі коліту зменшувала ступінь деструктивних ушкоджень, вміст ТБК-активних продуктів, активність мілопероксидази, індукцельної NO-синтази, супероксиддисмутази та каталази у слизовій оболонці товстої кишки, що свідчить про зниження нітрозно-оксидативного стресу та посилення процесів цитопротекції. Застосування мосаприду цитрату має не тільки прокінетичний вплив, але й цитопротекторний, антиоксидантний і протизапальний за умов експериментального коліту.

Ключові слова: ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ КОЛІТ, 5-HT₄ РЕЦЕПТОРИ, NO-СИНТАЗА, ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ, ЕНЗИМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ

**EFFECT OF 5-HT₄ RECEPTORS AGONIST (MOSAPRIDE CITRATE)
ON LIPIDPEROXIDATION, NITROGEN (II) OXIDE PRODUCTION
AND MORPHOLOGY OF COLON MUCOSA
UNDER THE CONDITIONS OF ULCERATIVE COLITIS**

N. Denysenko, A. Sklyarov
denysenko.natalka@gmail.com

Danylo Halytsky Lviv National Medical University,
69 Pekarska str., Lviv 79010, Ukraine, zimenkovsky@meduniv.lviv.ua

Serotonin plays an important role in function regulation of the gastrointestinal tract, including the colon. We know that almost all of human body's serotonin is synthesized and deposited in enterochromaffin cells localized in colon mucosa. Implementation of serotonin influence on smooth muscles, blood vessels and colon mucosa is performed by activating various types of serotonin receptors. 5-HT₄ receptors play significant role among them as they are identified on cell membranes of the colon (enterocytes, smooth muscle, endothelium).

We used mosapride citrate — a 5-HT₄ receptors agonist to determine their role. The study was conducted in nonlinear rats of both sexes, who were divided into 4 groups (first — intact animals, second — animals, injected 5-HT₄

receptors agonist, third — animals with experimental colitis, fourth — animals injected 5-HT₄ receptors agonist under condition of experimental colitis). Colitis was modeled by introducing a solution of acetic acid in the colon.

The colitis was accompanied by increased activity of lipid peroxidation processes, inducible NO-synthase, myeloperoxidase, which causes the development of nitrozo-oxidative stress. Mosapride action does not lead to severe morphological and biochemical changes in the colon mucosa. Activation of 5-HT₄ receptors by mosapride under the condition of colitis reduced degree of destructive damage, content of TBA-active products, the activity of myeloperoxidase, inducible NO-synthase, superoxide dismutase and catalase in the colon mucosa, indicating a decrease of nitrozo-oxidative stress and strengthening of cytoprotection. Application of mosapride citrate has not only prokinetic effect, but also cytoprotective, antioxidant and anti-inflammatory under condition of experimental colitis.

Keywords: EXPERIMENTAL COLITIS, 5-HT₄ RECEPTORS, NO-SYNTHASE, LIPID PEROXIDATION, ANTIOXIDANT ENZYMES

ВЛИЯНИЕ АГОНИСТА 5-НТ₄ РЕЦЕПТОРОВ (МОСАПРИДА ЦИТРАТА) НА ПРОЦЕССЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ, ПРОДУКЦИЮ ОКСИДА АЗОТА (II) И МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОЛСТОЙ КИШКИ НА ФОНЕ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

Н. В. Денисенко, А. Я. Скляр
denysenko.natalka@gmail.com

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого,
ул. Пекарская, 69, г. Львов, 79010, Украина, zimenkovsky@meduniv.lviv.ua

Серотонин играет важную роль в регуляции функций органов желудочно-кишечного тракта, в том числе и толстой кишки. Известно, что почти весь серотонин в организме человека синтезируется и депонируется в энтерохромаффинных клетках, локализованных в слизистой оболочке кишки. Реализация влияния серотонина на гладкие мышцы, кровеносные сосуды и слизистую оболочку толстой кишки осуществляется путем активации различных типов серотониновых рецепторов. Среди них значительная роль принадлежит 5-НТ₄ рецепторам серотонина, поскольку они идентифицированы на мембранах клеток толстой кишки (энтероциты, гладкомышечные, эндотелий).

Для определения роли 5-НТ₄ рецепторов серотонина был использован их агонист — мосаприда цитрат. Исследование было проведено на нелинейных крысах обоих полов, которые были распределены на 4 группы (первая — интактные животные, вторая — животные, которым вводили агонист 5-НТ₄ рецепторов серотонина, третья — животные, которым моделировался экспериментальный колит, четвертая — животные, которым вводили агонист 5-НТ₄ рецепторов серотонина на фоне экспериментального колита). Колит моделировали путем введения раствора уксусной кислоты в толстую кишку.

Экспериментальный уксуснокислый колит сопровождался ростом активности процессов липопероксидации, индуцибельной NO-синтазы, миелопероксидазы, что вызывает развитие нитрозо-оксидативного стресса. Самостоятельное действие мосаприда не приводило к выраженным морфологическим и биохимическим изменениям в слизистой оболочке толстой кишки. Активация 5-НТ₄ серотониновых рецепторов мосапридом на фоне колита уменьшала степень деструктивных повреждений, содержание ТБК-активных продуктов, активность миелопероксидазы, индуцибельной NO-синтазы, супероксиддисмутазы и каталазы в слизистой оболочке толстой кишки, что свидетельствует о снижении нитрозо-оксидативного стресса и усилении процессов цитопroteкции. Применение мосаприда цитрата имеет не только прокинетическое влияние, но и цитопротекторное, антиоксидантное и противовоспалительное действие в условиях экспериментального колита.

Ключевые слова: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ КОЛИТ, 5-НТ₄ РЕЦЕПТОРЫ, NO-СИНТАЗА, ПРОЦЕССЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ, ЭНЗИМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ

В основі патогенезу більшості захворювань товстої кишки лежить запалення, а також порушення моторики, секреції та мікро-

біоценозу [1]. У регуляції функцій тонкої та товстої кишки (ТК) значну роль відіграє серотонін та його рецептори [2]. Встановле-

но, що близько 95 % усього запасу серотоніну в організмі людини міститься у слизовій оболонці органів травного тракту, з них 90 % синтезується в enteroхромафінних клітинах (ЕХ клітинах) за участі триптофангідроксилази-1, та значно менша частина — у серотонінергічних нейронах ентеральної нервової системи (ЕНС) за участі триптофангідроксилази-2 [3]. У слизовій оболонці товстої кишки (СОТК) серотонін при дії ушкоджуючих факторів вивільняється з ЕХ клітин та бере участь у розвитку запалення, змінах мікрогемодинаміки, тоді як, виділяючись з серотонінергічних нейронів, впливає на моторику товстої кишки [4].

Реалізація впливу серотоніну на епітеліальні клітини відбувається за участю 5-HT₄ рецепторів. Моторна функція регулюється різними рецепторами серотоніну і, залежно від типу рецептора, а також шляху впливу (стимуляція/блокування), може призвести до розслаблення м'язів (стимуляція 5-HT₂, 5-HT₇) або скорочення (блокування 5-HT₃, стимуляція 5-HT₄, 5-HT₁ рецепторів) [2].

Активация 5-HT₄ рецепторів призводить до підвищення секреції ентероцитами, посилення виділення ацетилхоліну з еферентних закінчень нейронів ЕНС та серотоніну з ЕХ клітин, що спричиняє скорочення м'язів товстої кишки [2]. Отже, 5-HT₄ рецептори беруть участь у регуляції процесів міжклітинної інтеграції у слизовій та м'язовій оболонках ТК.

Значна роль у регуляції функцій органів травної системи належить системі L-аргінін/NO-синтаза/NO. За фізіологічних умов нітрогену (II) оксид, що синтезується конститутивними ізоформами NO-синтази (eNOS, pNOS), спричиняє дилатацію судин, бере участь у нейротрансмісії, регулює процеси транспорту електролітів, води та проявляє захисний ефект щодо дії умовнопатогенної мікрофлори [5].

З результатів попередніх досліджень відомо, що рівень серотоніну при запальних процесах в СОТК зростає [6]. Розвиток запалення у СОТК викликає підвищення продукції NO за участю індукцйбельної NO-синтази (iNOS), що призводить до підвищення синтезу пероксинітриту [7]. Одночасно інтенсифікуються процеси ліпопероксидації, що супроводжується підвищенням продукції супероксид-аніону [8].

Зміни нітрузо-оксидативних процесів за умов впливу агоніста 5-HT₄ рецепторів при експериментальному коліті потребують поглибленого дослідження.

Метою нашої роботи було визначення впливу агоніста 5-HT₄ рецепторів — мосаприду на стан системи L-аргінін/NOS/NO, процеси ліпопероксидації, активність ензимів антиоксидантного захисту та мієлопероксидази у СОТК за умов експериментального виразкового коліту.

Матеріали і методи

Дослідження було проведено на 40 статевозрілих білих нелінійних щурах обох статей, масою 200–220 г. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію, забезпечували безперешкодний доступ до води. Всі дослідження були проведені згідно з міжнародними умовами проведення експериментів з лабораторними тваринами. За добу до експерименту тварин утримували на водній дієті.

Щурів було поділено на 4 групи: 1 — інтактні тварини; щурам 2-ї групи за допомогою зонду внутрішньошлунково вводили агоніст 5-HT₄ рецепторів — мосаприд, використовували зареєстрований в Україні лікарський засіб «Мосид МТ» (*Торрент Фармасьютікалс Лтд.*, Індія) у дозі 10 мг/кг. Тваринам 3-ї та 4-ї груп моделювали виразковий коліт (ВК) шляхом введення 1 мл 4 %-го розчину ацетатної кислоти у товсту кишку, попередньо промиту фізіологічним розчином. Тривалість експозиції розчину кислоти становила 1 хв, після чого кишку промивали 0,1 М фосфатним буфером (pH=7,4) [9]. Тваринам 4-ї групи вводили агоніст рецепторів 5-HT₄ — мосаприд аналогічно, як тваринам 2-ї групи. ВК моделювали через 1 год після введення досліджуваної сполуки. Евтаназію здійснювали шляхом внутрішньоочеревинного введення розчину уретану (*Sigma*, Швейцарія) у дозі 3 г/кг.

Після розтину черевної порожнини видаляли товсту кишку, розрізали її вздовж, промивали 0,9 % розчином натрію хлориду, залишки вологи забирали фільтрувальним папером.

Оцінку площі та ступеня структурно-геморагічних уражень (СГУ) СОТК проводили методом планіметрії [10]. Диференційно

макроскопічно ураження СОТК оцінювали в балах: 1) наявність набряку, посиленого судинного рисунку — 1 бал; 2) наявність крапкових крововиливів діаметром до 1 мм — 2 бали; 3) наявність гіперемії — 3 бали; 4) наявність ерозій у вигляді тріщин СОТК — 4 бали; 5) наявність виразки у вигляді окремих глибоких уражень СОТК з фіброзним нальотом та запальним процесом довкола них — 5 балів. Після цього кишку фотографували і брали зразки для гістологічного дослідження з проксимального відділу ободової кишки, які фіксували у 10 % нейтральному розчині формаліну впродовж 10 діб. Гістологічні препарати ТК зневоднювали 96 % етанолом та ущільнювали ксилолом, заливали парафіном і виготовляли тонкі зрізи (6–8 мкм) за допомогою мікротому. Забарвлювали гематоксиліном Ерліха впродовж 5 хв, промивали, після чого препарат фарбували 1 % водним розчином еозину. Морфологічні дані стану СОТК оцінювали комплексно із врахуванням візуальної макроскопічної якісної оцінки функціонального стану поверхні слизової та гістологічної картини. Мікрофотографії отримано за допомогою цифрової фотокамери *SONY DSLR-A200* (*SONY*, Японія) та мікроскопа *Olympus BX-41* (*Olympus Europe GmbH*, Японія) при збільшенні $\times 100$.

Для біохімічного дослідження СОТК за допомогою скальпеля відсепаровували, гомогенізували в охолодженому 0,9 % розчині натрію хлориду у співвідношенні 1:5 при швидкості обертів гомогенізатора 3000 об/хв. Для осадження грубодисперсних залишків клітин гомогенати центрифугували при 1600 g ($t=0\ldots-4\text{ }^{\circ}\text{C}$).

В отриманих супернатантах визначали активність NO-синтази (NOS) за накопиченням новосинтезованого L-цитруліну [11], каталази [12], супероксиддисмутази (СОД) [13], мієлопероксидази (МПО) [14], вміст ТБК-активних продуктів [15], L-аргініну за реакцією Сакагучі [16], протеїну [17]. Абсорбцію вимірювали на біохімічному аналізаторі *StatFax 1904* (США).

Статистичний аналіз здійснювали за допомогою програми *OriginPro 7.0*. Дані представлені як середнє арифметичне (М) та стандартне відхилення (m), вірогідність визначалась за допомогою *t*-критерію Стюдента, оскільки розподіл, визначений за допомогою тесту Шапіро-Вілка, виявився нормальним.

Результати й обговорення

Моделювання гострого ВК зумовило появу глибоких ерозивно-виразкових змін у СОТК (Табл. 1, Рис. 1.3, Рис. 2.3). Самостійна дія агоніста 5-НТ₄ рецепторів — мосаприду не спричинила жодних макроскопічних ушкоджень СОТК (Табл. 1, Рис. 1.2, Рис. 2.2). Введення агоніста 5-НТ₄ рецепторів — мосаприду на тлі ВК сприяло зменшенню як площі, так і глибини ушкоджень (Табл. 1, Рис. 1.4, Рис. 2.4). Зокрема площа ураження зменшилась на 40 % ($P\leq 0,05$), а індекс СГУ знизився на 31 % ($P\leq 0,01$) порівняно з показниками групи тварин з колітом.

На Рисунок 1 зображено загальний візуальний вигляд та макроскопічні зміни фрагменту товстої кишки.

Таблиця 1

Зміни площі ушкодження та індексу СГУ при введенні агоніста 5-НТ₄ рецепторів — мосаприду на тлі виразкового коліту

Area of inflammation and damage index of colon mucosa after the administration of 5-HT₄ receptors agonist mosapride under the conditions of ulcerative colitis

	Інтактні (n=10) Control (n=10)	Мосаприд (n=10) Mosapride (n=10)	Коліт (n=10) Colitis (n=10)	Коліт + мосаприд (n=10) Colitis + mosapride (n=10)
Площа ушкодження, мм ² Area of inflammation, mm ²	—	—	12,36±3,32	7,41±1,03 ^{##}
Індекс СГУ Damage index	—	—	11,29±2,04	7,82±2,02 ^{##}

Примітка: * — $P<0,05$, ** — $P<0,01$, *** — $P<0,001$ порівняно з контролем; # — $P<0,05$, ## — $P<0,01$, ### — $P<0,001$ порівняно з колітом

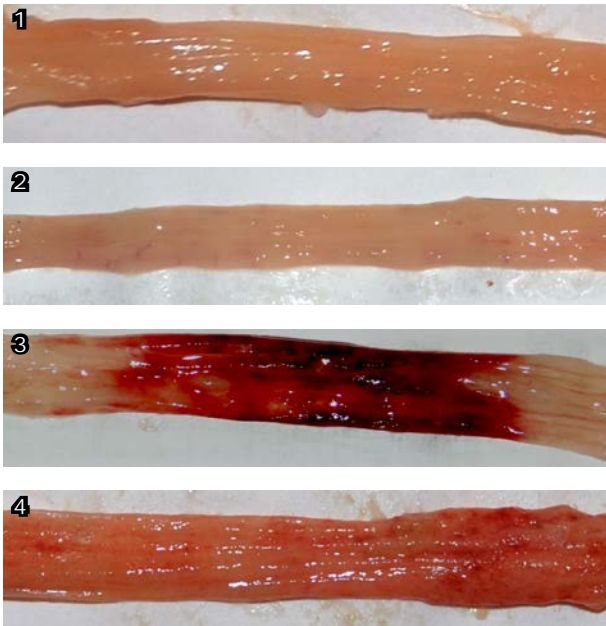


Рис. 1. Макроскопічні зміни в СОТК в інтактних тварин (1), при введенні агоніста 5-НТ₄ рецепторів — мосаприду (2), при моделюванні коліту (3), при введенні агоніста 5-НТ₄ рецепторів — мосаприду на тлі виразкового коліту (4).

Fig. 1. Macroscopic changes of colon mucosain control group (1), after administration of 5-НТ₄ receptors agonist — mosapride (2), colitis group (3), after administration of 5-НТ₄ receptors agonist — mosapride under the conditions of colitis (4).

Гістологічними дослідженнями відзначено, що стан епітеліоцитів крипт та слизовий бар'єр за умов самостійного введення агоніста 5-НТ₄ рецепторів не змінювався порівняно з контрольними (Рис. 2.2). За умов ВК у зоні ураження відбувались значні деструктивні ушкодження СОТК, а в деяких з них деструктивні зміни досягали м'язової оболонки ТК (Рис. 2.3). Окрім цього, відзначались крововиливи та інфільтрація нейтрофілами СОТК. Активація 5-НТ₄ рецепторів призводила до зниження ступеня гістологічних порушень — відзначено збереження структури крипт, однак спостерігалось порушення слизового бар'єру, відшарування епітеліоцитів, крововиливи.

Встановлено, що при експериментальному ВК у СОТК суттєво зростала концентрація ТБК-активних продуктів на 53 % ($P \leq 0,001$) (Рис. 3.1), паралельно підвищувалась активність МПО — у 5,6 разу ($P \leq 0,001$) (Рис. 3.4) порівняно з відповідними показниками контролю (Рис. 3). Активність ензимів антиоксидантного захисту — СОД та каталази за умов

коліту зростала — активність СОД підвищилась у 2,3 разу ($P \leq 0,001$) (Рис. 3.2), активність каталази — на 40 % ($P \leq 0,001$) (Рис. 3.3) порівняно з показниками контролю. Зростання активності СОД свідчить про підвищення продукції супероксид-аніону під час запалення.

Зміни системи L-аргінін/NO-синтаза/NO за умов коліту характеризувались наступним: активність iNOS зростала у 4,3 разу ($P \leq 0,001$) (Рис. 3.5), активність cNOS знижувалась в 1,4 разу ($P \leq 0,001$) (Рис. 3.6) порівняно з контролем. Такі зміни є цілком очевидними, оскільки зростання активності iNOS обумовлене підвищеним вмістом прозапальних цитокінів в ділянці запалення [18]. Інтенсивне використання NO-синтазами L-аргініну як субстрату призвело до зниження активності аргінази у 3,5 разу ($P \leq 0,001$) (Рис. 3.7), а також зменшення концентрації L-аргініну у СОТК на 26 % ($P \leq 0,001$) (Рис. 3.8) порівняно з показниками контролю.

Самостійна дія агоніста 5-НТ₄ рецепторів — мосаприду не призводила до статистично значущих змін досліджуваних показників, окрім зростання вмісту L-аргініну на 18 % порівняно з контролем ($P \leq 0,05$) (Рис. 3.1–8).

Вплив агоніста 5-НТ₄ рецепторів — мосаприду на тлі ВК призводив до зменшення концентрації продуктів ТБК на 22 % ($P \leq 0,01$) (Рис. 3.1), активність МПО — на 37 % ($P \leq 0,05$) (Рис. 3.4). Одночасно зменшувалась активність ензимів антиоксидантного захисту — СОД на 28 % ($P \leq 0,01$) (Рис. 3.2), каталази — на 16 % ($P \leq 0,01$) (Рис. 3.4) порівняно з показниками групи тварин з колітом.

За дії агоніста 5-НТ₄ рецепторів на тлі коліту активність iNOS знижувалась на 31 % ($P \leq 0,05$) (Рис. 3.5), активність cNOS знижувалась на 18 % ($P \geq 0,05$) (Рис. 3.6), активність аргінази зростала у 2,8 разу ($P \leq 0,001$) (Рис. 3.7) порівняно з показниками тварин з ВК. Вміст L-аргініну у СОТК збільшився на 18 % ($P \geq 0,05$) (Рис. 3.8) порівняно з 3-ою групою.

Отже, активація 5-НТ₄ рецепторів призводила до зменшення нітрато-оксидативних процесів та зниження запалення.

Оцтовокислий ВК у щурів викликає характерні деструктивні зміни у СОТК, що супроводжується підвищенням вмісту ТБК-активних

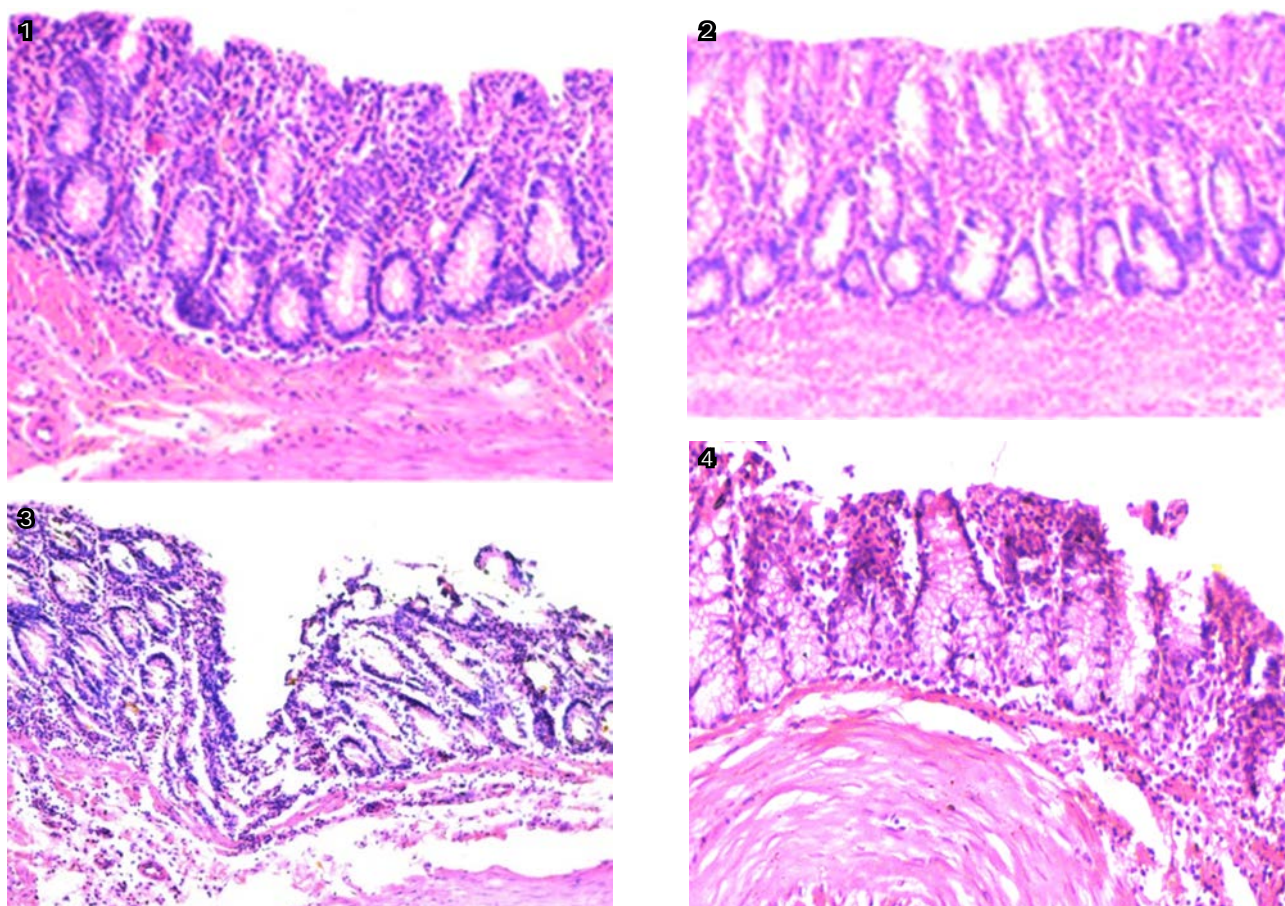


Рис. 2. Гістологічні зміни в СОТК в інтактних тварин (1), при введенні агоніста 5-НТ₄ рецепторів — мосаприду (2), при моделюванні коліту (3), при введенні агоніста 5-НТ₄ рецепторів — мосаприду на тлі виразкового коліту (4) (збільшення $\times 200$).

Fig. 2. Histological changes of colon mucosa in control group (1), after administration of 5-HT₄ receptors agonist — mosapride (2), colitis group (3), after administration of 5-HT₄ receptors agonist — mosapride under the conditions of colitis (4) (total magnification 200x)

продуктів, інтерлейкіну 1 β , фактору некрозу пухлин α , зростанням активності СОД, iNOS, МПО та зниженням активності аргінази [18, 19, 24]. Підвищення активності iNOS за умов коліту призводить до зниження вмісту L-аргініну, активності аргінази та eNOS у СОТК, що свідчить про перерозподіл використання L-аргініну NO-синтазою та аргіназою за умов запалення.

Розвиток ВК супроводжується зростанням рівня біосинтезу серотоніну ЕХ-клітинами у СОТК [6]. Серотонін, що вивільняється з ЕХ-клітин у СОТК, за паракринним механізмом дії впливає на перистальтику, секрецію, проявляє нейропротекторну дію, регулює процеси росту клітин у та захисні механізми, що включаються у запальний процес [25, 26]. За умов коліту відзначено у СОТК зростання кількості ЕХ-клітин [22, 23]. Серотонін, поступаючи у між-

клітинний простір з ЕХ клітин, захоплюється специфічним мембранним транспортером серотоніну, експресія якого за умов коліту знижується, що призводить до підвищення вмісту серотоніну у міжклітинному просторі та його дії на чисельні рецептори [21].

У регуляції моторики, секреції та ноцицепції товстої кишки провідну роль відіграють 5-НТ₄ рецептори, які локалізуються на гладких м'язах, ЕХ-клітинах та нейронах ентеральної НС. Активація 5-НТ₄ рецепторів мієнтеральних нейронів викликає підвищення виділення ацетилхоліну та активацію моторики, тоді як дія агоністів на 5-НТ₄ рецептори ЕХ-клітин спричинює виділення серотоніну у міжклітинний простір [27].

Нашими дослідженнями показано, що дія агоніста 5-НТ₄ рецепторів мосаприду призводила як до зменшення площі деструктив-

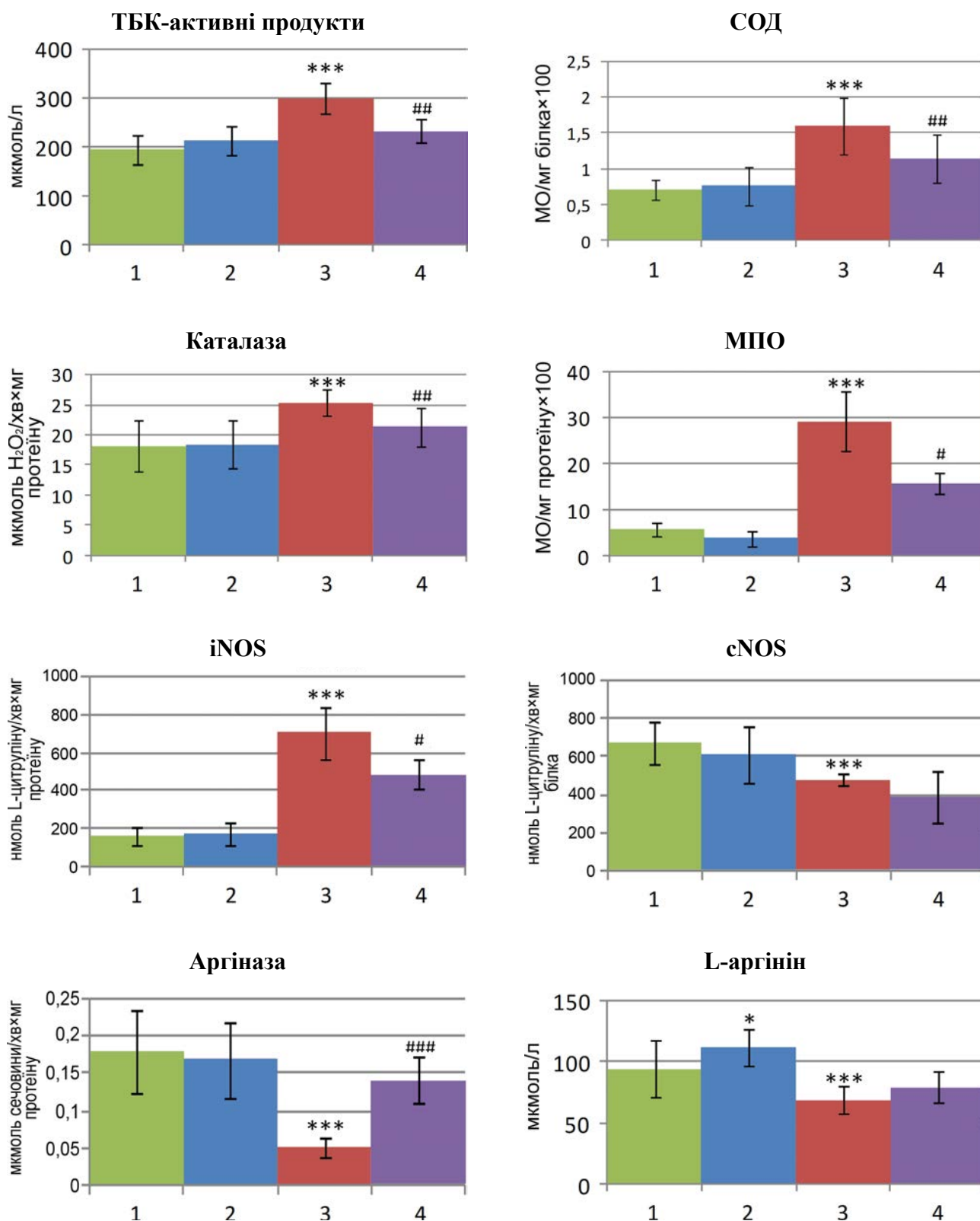


Рис. 3. Зміни вмісту продуктів ТБК (1), активності СОД (2), каталази (3), МПО (4), iNOS (5), cNOS (6), аргінази (7) та вмісту L-аргініну (8) у гомогенатах СОТК, при введенні агоніста 5-HT₄ рецепторів — мосаприду на тлі виразкового коліту

Fig. 3. Changes of MDA concentration (1), SOD (2), catalase (3), MPO (4), iNOS (5), cNOS (6), arginase (7) activity and concentration of L-arginine in colon mucosa homogenates after the 5-HT₄ receptors agonist — mosapride administration

Примітка: * — P<0,05, ** — P<0,01, *** — P<0,001 порівняно з контролем; # — P<0,05, ## — P<0,01, ### — P<0,001 порівняно з колітом

них макроскопічних та гістологічних ушкоджень, так і зниження нітрато-оксидативного стресу за умов експериментального ВК. Активність 5-HT₄ рецепторів спричиняла зниження вмісту ТБК-активних продуктів, маркера рівня процесів ліпопероксидації, активності МПО — маркера активності нейтрофілів. Знижувався рівень активності ферментів антиоксидантного захисту — СОД та каталази. Важливим є те, що за умов активації 5-HT₄ рецепторів відзначалось зниження активності іNOS що, відповідно, призводило до зменшення продукції пероксинітриду.

Протизапальна, антиоксидантна та цитопротекторна дії агоніста 5-HT₄ рецепторів мотакприду може бути обумовлена декількома механізмами — безпосереднім впливом мотакприду на клітини, зниженням продукції цитокінів у СОТК, виділенням місцевих біологічно-активних речовин (простагландину Е₂, гістаміну, вазоактивного інтестинального поліпептиду) [28]. Одним з можливих механізмів зростання цитопротекторної функції при активації 5-HT₄ рецепторів є посилення проліферативних процесів внаслідок зростання продукції факторів росту, окрім цього, зменшення поступлення бактеріальних ліпополісахаридів та флагелінів обумовлено підвищенням моторики. Також до факторів, що посилюють цитопротекцію, слід віднести підвищення слизовиділення епітеліоцитами, на мембрані яких знаходяться 5-HT₄ рецептори [2]. Таким чином, внаслідок задіяння різних механізмів дії активація 5-HT₄ рецепторів за умов експериментального ВК проявляє цитопротекторну, антиоксидантну та протизапальну дію та зменшує рівень нітрато-оксидативних процесів.

Висновки

1. Оцтовокислий коліт викликає виражені деструктивні зміни СОТК, що супроводжуються різким зростанням ТБК-активних продуктів, і, відповідно, процесів ліпопероксидації, активності мієлопероксидази, індукційної NO-синтази, тоді як активність аргінази та вміст L-аргініну у СОТК при цьому зменшувались, що свідчить про домі-

нуючу роль нітрато-оксидативних процесів у розвитку структурно-геморагічних ушкоджень за умов експериментального коліту.

2. Внутрішньошлункове введення агоніста 5-HT₄ рецепторів (мотакприду цитрату у дозі 10 мг/кг) знижувало ступінь деструктивних ушкоджень СОТК, зменшувало вміст ТБК-активних продуктів, активність мієлопероксидази та індукційної NO-синтази, активність ферментів антиоксидантного захисту — СОД та каталази, що свідчить про зменшення рівня нітрато-оксидативних процесів у товстій кишці, порівняно з відповідними результатами за умов коліту.

3. Застосування агоніста 5-HT₄ рецепторів (мотакприду цитрату) у слизовій оболонці товстої кишки проявляє цитопротекторний, антиоксидантний та протизапальний ефекти та знижує рівень нітрато-оксидативного стресу за умов оцтовокислого коліту у шурів.

Перспективи подальших досліджень.

Серед питань, які потребують подальших досліджень, є визначення клітинних та молекулярних механізмів за умов активації 5-HT₄ рецепторів серотоніну у товстій кишці. У цьому напрямі для розкриття цитопротекторних механізмів необхідно провести дослідження змін факторів росту — судинного ендотеліального фактору росту (VEGF), фактору росту фібробластів (bFGF), епідермального фактору росту. Також необхідно визначити зміни рівнів експресії ізоформ NO-синтази та циклооксигенази.

1. Garud S., Peppercorn M. A. Ulcerative colitis: current treatment strategy and future prospects. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 2009, 2 (2), pp. 99–108.

2. De Ponti F. Pharmacology of serotonin: what a clinician should know. *Gut*. 2004, 53, pp. 1520–1535.

3. Goldner D., Gross-Margolis K. Association of serotonin transporter promoter polymorphism (5HTTLPR) with microscopic colitis and ulcerative colitis: time to be AsSERTive? *Digestive Diseases and Sciences*, 2015, 60 (4), pp. 819–821.

4. Gershon M. D. Review article: serotonin receptors and transporters — roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2004, 20 (7), pp. 3–14.

5. Vento P., Kiviluoto T., Jarvinen H. J., Soynila S. Changes in distribution of three isoforms of nitric

oxidesynthase in ulcerative colitis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2001, 36, pp. 180–189.

6. Magro F., Fraga S., Azevedo I., Soares-da-Silva P. Intestinal 5-hydroxytryptamine and mast cell infiltration in rat experimental colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 2006, 51 (3), pp. 495–501.

7. Kruidenier L., Kuiper I., Lamers C. B., Verspaget H. W. Intestinal oxidative damage in inflammatory bowel disease: semi-quantification, localization, and association with mucosal antioxidants. *The Journal of Pathology*, 2003, 201 (1), pp. 28–36.

8. Muscoli C., Mollace V., Wheatley J., Masin E., Ndengele M., Wang Z. Q., Salvemini D. Superoxide-mediated nitration of spinal manganese superoxide dismutase: a novel pathway in N-methyl-D-aspartate-mediated hyperalgesia. *Pain*, 2004, 111 (1–2), pp. 96–103.

9. Fedorak R. N., Empey L. R., MacArthur C., Jewell L. D. Misoprostol provides a colonic mucosal protective effect during acetic acid-induced colitis in rats. *Gastroenterology*, 1990, 98 (3), pp. 615–625.

10. Fomenko I. S., Bondarchuk T. I., Biletska L. P., Panasyuk N. B., Sklyarov O. Ya. Study of role of NO-synthase system in gastric mucosa of rats under the influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the background of adrenaline-induced stress. *Bulletin of problems in biology and medicine*, 2013, 3, 1 (102), pp. 245–249. (in Ukrainian)

11. Ravaeva M. Yu., Chuyan E. N. Changes in activity of nitric oxide synthesis system after the action low mm radiation. *Scientists Notes of Tavria National University named after V. I. Vernadsky, Series "Biology, Chemistry"*, 2011, 24 (63), 4, pp. 201–210. (in Russian)

12. Korolyuk M. A., Ivanova L. I., Mayorova I. G. The method of determination of catalase activity. *Laboratory Work*, 1988, 1, pp. 16–19. (in Russian)

13. Goryachkovskyy A. M. **Clinical Biochemistry**. Second edition, corrected and updated, Odesa, 1998, pp. 368–369. (in Russian)

14. Bradley P. P., Christensen R. D., Rothstein G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. *Blood*, 1982, 60, pp. 618–622.

15. Timirbulatov M. A., Seleznyov E. I. Increase intensity method of free oxidation lipidcontaining blood components and its diagnostic value. *Laboratory Work*, 1981, 4, pp. 209–211. (in Russian)

16. Golikov P. P., Matveev S. B., Pakhomova G. V. Dynamics of excretion of the end product of nitric oxide and nitrite excretion under conditions of peritonitis. *Clinical Laboratory Services*, 1999, 9, pp. 17–18. (in Russian)

17. Ruth F., Itzhaki D. M. A micro-biuret method for estimating proteins. *Analytical Biochemistry*, 1964, 9 (4), pp. 401–410.

18. Sklyarov A. Ya., Panasyuk N. B., Fomenko I. S. Role of nitric oxide-synthase and cyclooxygenase/lipoxygenase systems in development of experimental

ulcerative colitis. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2011, 62 (1), p. 65. (in English)

19. Fomenko I. S., Sklyarov P. O., Panasyuk N. B., Biletska L. P., Sklyarov O. Ya. Changes in activity of NO-synthase system and arginase in colon mucosa blocking inflammatory enzymes under the conditions of experimental colitis. *Taurian Medical and Biology Journal*. 2012, 15, 3, 1 (59), pp. 361–363. (in Ukrainian)

20. Fomenko I. S., Nasadyuk K. M., Shamro N. R., Denisenko N. V., Sklyarov A. Ya. The influence of vitamin C on the mechanisms of cytoprotection, lipoperoxidation and NO-Synthase activity in stress and experimental colitis in Rats. Modern directions in chemistry, biology, pharmacy and biotechnology. Lviv Polytechnic Publishing House, 2015, pp. 164–170.

21. Bertrand P. P., Barajas-Espinosa A., Neshat S., Bertrand R. L., Lomax A. E. Analysis of real-time serotonin (5-HT) availability during experimental colitis in mouse. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2010, 298, pp. 446–455.

22. Linden D. R., Chen J. X., Gershon M. D., Sharkey K. A., Mawe G. M. Serotonin availability is increased in mucosa of guinea pigs with TNBS-induced colitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2003, 285, pp. 207–216.

23. O'Hara J. R., Ho W., Linden D. R., Mawe G. M., Sharkey K. A. **Enteroendocrine cells and 5-HT availability** are altered in mucosa of guinea pigs with TNBS ileitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2004, 287, pp. 998–1007.

24. Bregano J. W., Barbosa D. S., El Kardi M. Z. Comparison of selective and non-selective cyclooxygenase 2 inhibitors in experimental colitis exacerbation: role of leukotriene B4 and superoxide dismutase. *Arquivos de Gastroenterologia (Archives of Gastroenterology)*, 2014, 51, 3. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-28032014000300226&script=sci_arttext.

25. Takaki M., Goto K., Kawahara I. The 5-hydroxytryptamine 4 receptor agonist-induced actions and enteric neurogenesis in the gut. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 2007, 20 (1), pp. 17–30.

26. Margolis K. G., Stevanovic K., Li Z., Yang Q. M., Oravec T., Zambrowicz B., Jhaver K. G., Diacou A., Gershon M. D. **Pharmacological reduction of mucosal but not neuronal serotonin opposes inflammation** in mouse intestine. *Gut*, 2014, 63 (6), pp. 928–937.

27. Mawe G. M., Hoffman M. **Serotonin signaling in the gastrointestinal tract: functions, disfunctions and therapeutic targets**. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2013, 10 (8), pp. 473–486.

28. Sklyarov O. Ya., Kosy Y. R., Sklyarov Y. Ya. **Fundamentals of Gastroenterology**. Textbook. Lviv, Quartus, 2011, p. 28. (in Ukrainian)