

**Перекисное окисление липидов и креатинкиназная  
активность в системе кишечник–кровь–мозг  
в динамике неспецифического язвенного колита,  
индуцированного декстран сульфатом натрия**

**А. Г. Геворкян<sup>1</sup>, Н. Х. Алчуджян<sup>2</sup>, А. А. Агабабова<sup>2</sup>,  
Л. А. Барсегян<sup>1</sup>, И. В. Овсепян<sup>1</sup>, М. Р. Оганнисян<sup>2</sup>,  
М.С. Мацоян<sup>1</sup>, М. И. Агаджанов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци  
0025, Ереван, ул. Корюна, 2*

<sup>2</sup>*Институт биохимии им. Г. Буянтяна НАН РА  
0014, Ереван, ул. П. Севака, 5/1*

*Ключевые слова:* декстран сульфат натрия, креатинкиназа, кортиколим-  
бическая система, лейкоциты, микробиота, перекис-  
ное окисление липидов, толстая кишка, неспецифи-  
ческий язвенный колит

Неспецифический язвенный колит (НЯК), хроническое заболевание слизистой оболочки толстой кишки, которое сопровождается изменениями микробиоты, активированием иммунного ответа с развитием воспалительного ответа и деструкцией слизистой и нарушением кишечного барьера [13, 22]. Один из механизмов поддержания гомеостаза обеспечивается двунаправленной связью между желудочно-кишечным трактом (ЖКТ) и мозгом, регулируемой на нейронном, гормональном, иммунологическом уровнях, еще одной важной составляющей такого взаимодействия является колонизация кишечника микроорганизмами [16]. Нарушение взаимодействия между кишечником, его микрофлорой и нервной системой характерно для патофизиологии острых и хронических желудочно-кишечных заболеваний, последние в свою очередь могут вызывать нарушения психики, что подтверждается коморбидностью НЯК и аффективных расстройств [10, 12]. Патологические процессы, лежащие в основе развития НЯК, еще недостаточно изучены, хотя известно, что хроническое воспаление связано с глубокими сдвигами в тканевом метаболизме. Свободные радикалы являются проводниками воспалительного процесса и участвуют в этиологии НЯК [21]. Растет количество данных, указывающих на то, что при воспалении слизистой нарушается энергетический гомеостаз, в

поддержании которого участвует система креатин – креатинфосфат – креатинфосфокиназа (КФК), последняя играет роль в регуляции функций эпителиального барьера кишечника и благоприятном исходе воспалительных заболеваний кишечника, включая НЯК [11]. В представленной работе исследуются процессы свободнорадикального окисления липидов и энергообмена в системе кишечник–кровь–мозг в динамике НЯК, индуцированного декстран сульфатом натрия (ДСН) на фоне изменений микробиоты.

## Материал и методы

Опыты осуществляли с соблюдением правил содержания и обращения с животными, изложенных в Директивах Европейского Сообщества и Советом от 22.09. 2010 г. (2010/63/ЕС) и одобренных комитетом по биомедицинской этике при Институте биохимии им. Г.Х. Бунятына НАН РА.

*Неспецифический язвенный колит* моделировали у мышей посредством химической индукции с использованием ДСН ( $M_r = 36000-50000$ ) [30]. Двух-трехмесячные беспородные белые мыши-самцы массой 26-30 г были разделены на группы (12/группу): I – мыши, получавшие с питьевой водой 3% ДСН в течение 7 дней и 4 % ДСН в последующие 3 дня; II – мыши, получавшие с питьевой водой 5.1 % ДСН в течение 5 дней; III – мыши, которых исследовали через 2 недели по окончании приема ДСН; IV – здоровые животные, соответствующие по возрасту и полу опытным и получавшие чистую питьевую воду.

*Клинико-патологический статус животных* оценивали по индексу активности болезни на основе ряда параметров: а) разница в массе между началом и концом введения ДСН: увеличение массы  $\geq 1$  г – 0 баллов; увеличение массы  $< 1$  г – 1 балл; уменьшение массы  $< 1$  г – 2 балла; уменьшение массы  $\geq 1$  г – 3 балла; б) консистенция стула: нормальный стул – 0 баллов; мягкий, но сформированный стул – 1 балл; жидкий стул – 2 балла; в) наличие крови в перианальной области: никаких следов крови в перианальной области – 0 баллов; следы крови в перианальной области – 1 балл; наличие крови в перианальной области – 2 балла. Длина толстой кишки учитывалась в качестве дополнительного индекса колита [27].

*Микробиологический анализ.* Животных вскрывали в асептических условиях (бокс) и для бактериологического анализа забирали образцы кала из нижней части кишки, крови, полученной после декапитации, и смывов мозга. Все образцы культивировали в питательном бульоне с сахарозой 24 ч при 37 °С (кровь разводили 1:5, v/v). Выросшие культуры микроскопировали, пересеивали на плотные питательные среды, чашки с агаром (среда Эндо, сахароза и кровяной агар) и инкубировали 24 ч. Пробы крови инкубировали 5 дней с ежедневным контролем роста. Ка-

качественный и количественный анализ микробиоты осуществляли согласно установленным процедурам [1, 19].

**Забор биологического материала.** После забора материала для бактериологического анализа толстую кишку извлекали, измеряли и после соответствующей обработки гомогенизировали [30]. На льду из мозга выделяли префронтальный кортекс (ПФК), стриатум, гиппокамп и гипоталамус. Ткани гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера (1500 об/мин) в течение 3 мин в 10-кратном объеме 20 мМ HEPES буфера pH 7.4, содержащем 3 мМ дитиотреитола.

**Выделение лейкоцитов и плазмы крови.** Кровь стабилизировали антикоагулянтом, 0.109 М 5.5-водным трехзамещенным цитратом натрия и смешивали с 6% декстраном ( $M_r = 70000$ ), приготовленном на 0.9 % NaCl в соотношении 1:2 (по объему) и инкубировали 1 ч при 37 °C (при наклоне под углом 45 градусов) с осаждением эритроцитов. Верхний слой плазмы, содержащий лейкоциты и тромбоциты, декантировали и центрифугировали при 1000 об/мин 5 мин, в осадке получали лейкоциты. Из надосадочной жидкости осаждали тромбоциты центрифугированием при 6000 об/мин 10 мин и в супернатанте получали плазму [6].

**Активность креатинфосфокиназы** определяли методом Эннора и Розенберга [4] по образованию креатина в обратной реакции переноса фосфатной группы с креатинфосфата (КФ) на АДФ. Пробы инкубировали в течение 1 ч при 37 °C в 20 мМ HEPES буфере pH 7.4, содержащем 5.5 мМ КФ и 0.06% АДФ. Реакцию останавливали осаждением белка введением 0.5 N NaOH и 10% ZnSO<sub>4</sub> в пропорции 1:1 (по объему), с последующим центрифугированием при 15000 об/мин 3 мин при комнатной температуре на настольной микроцентрифуге фирмы Eppendorf (США), и в супернатантах определяли содержание креатина. Активность КФК выражали в мкмоль креатина · мг<sup>-1</sup> белка · ч<sup>-1</sup>.

**Определение содержания креатина.** К супернатантам депротеинизированных проб добавляли 1% α-нафтол (приготовленный в растворе 16% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и 6% NaOH) и 1% диацетил, в соотношении 1:1:0.2 (по объему) и выдерживали 20 мин в темноте при комнатной температуре, после чего содержание креатина определяли спектрофотометрически при длине волны 536 нм [4]. Концентрацию креатина рассчитывали по калибровочной кривой для креатина (0.02 – 2 мкМ).

**Окислительный стресс** оценивали по состоянию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). К безбелковым супернатантам (пробы депротеинизировали 10% ТХУ) добавляли 0.6N HCl и 0.72% тиобарбитуровую кислоту (ТБК) в пропорции 1:0.2:0.8 (по объему), инкубировали 15 мин в кипящей водяной бане, и содержание ТБК-активных продуктов определяли по концентрации основного конечного продукта ПОЛ, малонового диальдегида (МДА), которую измеряли спектрофотометрически

при длине волны 535 нм (коэффициент молярной экстинкции комплекса МДА-ТБК –  $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) [2].

*Содержание белка* определяли методом Лоури с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта [23].

Спектральные измерения осуществляли на спектрофотометре Specol 211 (Германия).

*Статистика.* Достоверность различий оценивалась с использованием параметрического однофакторного дисперсионного анализа (one-way Anova) и последующим постдисперсионным тестом Холм-Сидака с помощью пакета программ SigmaStat 3.5 for Windows. В качестве критерия достоверности принималась  $p < 0.05$ .

## Результаты и обсуждение

У всех животных I и II групп, получавших разные концентрации ДСН в разном временном режиме (см. *Материалы и методы*) наблюдался НЯК мягкого (легкого) течения с поражением прямой и сигмовидной кишки, немногочисленными эрозиями, язвочками и очаговой гиперемией на фоне бледной слизистой. Клинические проявления характеризовались небольшим выделением крови и слизи, при этом индекс активности болезни в I, II и III экспериментальных группах составлял 3.5, 6 и 1.5 балла соответственно. Бактериологический анализ образцов кала, взятых из нижней части кишки ДСН-обработанных животных, показал выраженный рост *Candida albicans* и *Staphylococcus aureus*, а во II группе с повышением концентрации ДСН наряду с этим и гемолитических *Escherichia coli*. У некоторых мышей в крови, полученной после декапитации, а также в смывах мозга обнаруживались единичные колонии лактозонегативных *E. coli*, что свидетельствует о нарушении барьерной функции слизистой несмотря на мягкое течение НЯК. В течение двух недель после прекращения приема ДСН состояние слизистой животных нормализовалось так же, как и количественный и качественный состав микробиоты, признаков бактериальной транслокации не наблюдалось.

ДСН-индуцированный воспалительный процесс в слизистой толстой кишки, ассоциированный с нарушениями микробиоты, сопровождался метаболическими сдвигами. Как видно из рис. 1, в I группе (3%-4% ДСН) содержание МДА, основного конечного продукта ПОЛ, возросло в 4.6 и 1.6 раза в гомогенатах толстой кишки и лейкоцитов соответственно, по сравнению с контролем. Во II группе (5.1% ДСН) уровень МДА повышался в толстой кишке в той же степени, что и в I группе, тогда как в лейкоцитах детектировалось его пятикратное повышение по сравнению с контролем, что коррелировало с повышением индекса активности болезни и появлением в микробиоте этой группы животных гемолитической *E. coli*, вызывающей еще большее стимулирование иммунного ответа.

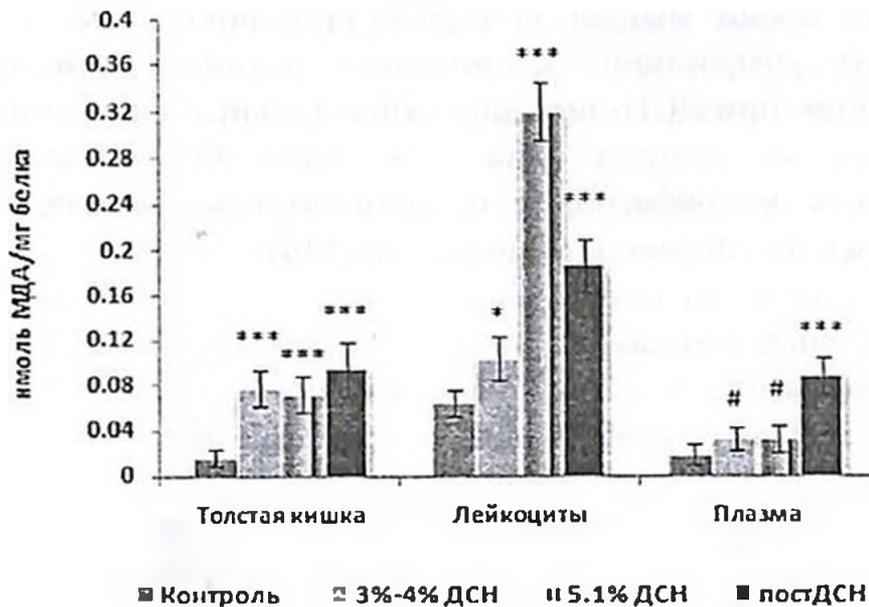


Рис. 1. Перекисное окисление липидов в толстой кишке, лейкоцитах и плазме крови при ДСН-индуцированном НЯК. Здесь и далее результаты представлены в виде  $M \pm SEM$ ,  $n=12$ , достоверность ( $p$ ) различий по сравнению с контролем – обозначениями: #  $p>0.05$ , \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$

Отметим, что в I группе каждая мышь за все время приема в среднем получала 20 г ДСН, а во II группе – 15 г ДСН, и, как выяснилось, влияние на исследуемые метаболические пути может оказывать не совокупная доза ДСН, а вводимая концентрация. В III группе (постДСН период), через 14 дней после отмены приема ДСН, высокий уровень МДА сохранялся в толстой кишке, а в лейкоцитах в 2.9 раза превышал норму, что указывает на персистирующий окислительный стресс. Повышенный уровень свободнорадикального окисления в лейкоцитах, по сравнению с тканями кишечника, обусловлен как возрастанием внутриклеточной продукции активных форм кислорода (АФК), так и подавлением АФК и/или продуктами липопероксидации активности систем антиоксидантной защиты, вследствие конформационных перестроек антиоксидантных ферментов с уменьшением их сродства к субстратам и кофакторам [18, 31]. В плазме содержание МДА возрастало в 4.8 раза только в постДСН периоде, что, скорее всего, связано не с усилением свободнорадикальных процессов, а более поздним подавлением в ней систем антиоксидантной защиты.

Интересно, что в сыворотке здоровых людей наблюдается положительная корреляция между интенсивностью оксидативного стресса и уровнем цитоплазматического изофермента аргиназы (АРГ1) [28]. Выброс супероксид-аниона и перекиси водорода вызывает повышение мРНК и активности АРГ1 в альвеолярных макрофагах крыс [25]. Показано, что окисленные липопротеины вызывают экспрессию АРГ1 в мышечных макрофагах [15]. Нами также получены данные об одновременном с процессами ПОЛ повышении активности аргиназы в гомогенатах толстой

кишки и лейкоцитов крови мышей при ДСН-индуцированном колите (готовится к печати). Возрастание клинической активности и гистологических повреждений при ДСН-индуцированном колите наблюдается у мышей, в толстой кишке которых снижается число АРГ1-позитивных противовоспалительных макрофагов, и продемонстрирована необходимость АРГ1 для проявления активности последних [36].

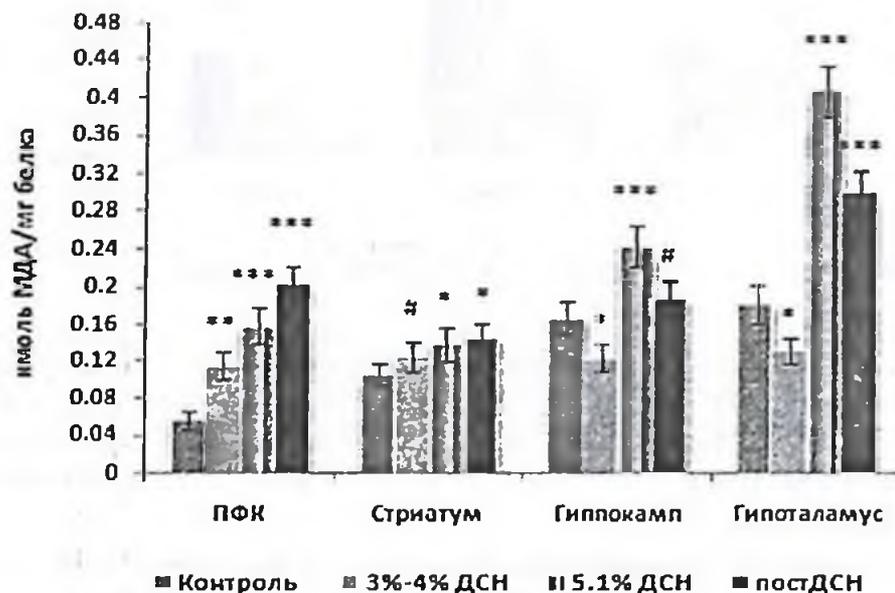


Рис. 2. Перекисное окисление липидов в кортиколимбической системе при ДСН-индуцированном НЯК

Различные комбинации факторов и последовательность их воздействия приводят к разнообразию макрофагальных фенотипов: макрофаги, участвующие в стимуляции воспалительной реакции, способны ответить на противовоспалительные сигналы и понизить свой воспалительный потенциал [3]. В этом смысле окислительный стресс, индуцируя АРГ1, может включать механизмы пластичности макрофагов с переориентированием их функциональной направленности. Участие отдельных изоформ аргиназы в развитии патологии является предметом наших дальнейших исследований.

Как уже отмечалось, количественные и качественные сдвиги микробиоты, развитие кишечной инфекции влияют на поведение, включая тревожное состояние, вызывают нарушения механизмов памяти [12, 32]. Метаболические пертурбации, происходящие в мозге, лежат в основе этих явлений. Нами изучались процессы ПОЛ в отделах кортиколимбической системы, участвующих в формировании эмоций и консолидации памяти. Как видно из рис. 2, в I группе только в ПФК наблюдалось двукратное повышение уровня МДА, тогда как во II группе он возрастал в 2.8, 1.3, 1.5 и 2.2 раза в ПФК, стриатуме, гиппокампе и гипоталамусе соответственно, по сравнению с контролем. В постДСН период высокое содержание МДА держалось и даже несколько повышалось в ПФК и гипоталамусе, а в гип-

покампе нормализовалось, что немаловажно, поскольку последний играет важную роль в памяти распознавания объектов, а его поражения вызывают умеренное стабильное ухудшение памяти у грызунов в тесте распознавания новых объектов [8].

Отметим, что в условиях окислительного стресса накопление продуктов ПОЛ в мембранах нервных клеток приводит к нарушению ионного гомеостаза с последующим развитием эксайтотоксичности и их гибели [14]. В то же время продукты ПОЛ вместе с АФК участвуют в редокс-регуляции ионного гомеостаза нейронов и, повышая активность потенциалзависимых кальциевых каналов плазматической мембраны, индуцируют длительную потенциацию, лежащую в основе когнитивных функций мозга, а также влияют на высвобождение медиаторов и экспрессию генов [5, 24]. Не исключено, что при ДСН-индуцированном НЯК легкого течения в ответ на воспалительный процесс в кишечнике происходит включение ПОЛ-индуцированных адаптационно-защитных механизмов в головном мозге, что еще предстоит выяснить.

Креатин является субстратом креатинкиназной ферментативной системы, ответственной за депонирование и транспорт энергии в виде КФ от источников ее образования к местам использования [9]. КФ обеспечивает срочный ресинтез АТФ в первые секунды (5-10 сек) креатинкиназной реакции, при которой удаляются продукты гидролиза АТФ, АДФ и  $H^+$ , что препятствует закислению внутриклеточной среды, а также участвует в высвобождении конечного продукта АТФазы, неорганического фосфата, который служит метаболическим сигналом [35]. Помимо этого, креатин и КФ взаимодействуют с фосфолипидами клеточных мембран и протектируют их, препятствуя апоптозу и лизису клеток [33].

В ходе ДСН-индуцированного НЯК происходит падение активности КФК в 4.2, 3.4 и 2.6 раза в толстой кишке, лейкоцитах и плазме крови соответственно, по сравнению с контролем (рис. 3). В I и II группах наблюдалось примерно сходное снижение активности КФК, хотя прием более высокой концентрации ДСН вызывал меньшее, но недостоверное падение активности фермента. В плазме II группы животных не выявлялось отклонений активности КФК от контрольных значений. В постДСН период наблюдалась тенденция к возрастанию активности КФК, в толстой кишке она достигала контрольных значений, так же как и в плазме, а в лейкоцитах даже превышала их в 1.4 раза. Восстановление энергообмена отражает процессы регенерации эпителия кишечника и активирования лейкоцитов.

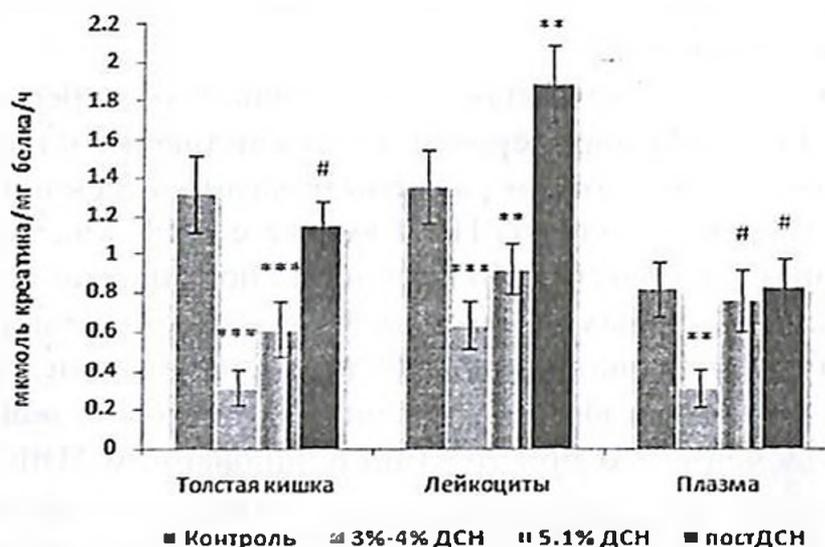


Рис. 3. Креатинфосфокиназная активность в толстой кишке, лейкоцитах и плазме крови при ДСН-индуцированном НЯК

Изучение содержания креатина в исследуемых пробах подтвердило результаты, полученные относительно сдвигов активности КФК при НЯК. Уровень креатина снижался в I группе в 3.9, 2.6 и 2.4 раза в толстой кишке, лейкоцитах и плазме крови соответственно, по сравнению с контрольными значениями; во II группе наблюдалось еще большее его падение в толстой кишке – в 6.9 раза, тогда как в лейкоцитах и плазме крови он сходен с таковым I группы (рис.4). В III группе определялось возрастание содержания креатина во всех исследуемых фракциях, что будет вносить свой вклад в создание благоприятных условий для восстановления слизистой кишечника и организма в целом.

Нарушение энергетического обмена, в частности метаболизма креатина, приводит к повышению проницаемости кишечного барьера при воспалении слизистой [34]. Полученные результаты согласуются с данными о том, что в биоптатах пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника детектируется пониженный уровень транскриптов цитоплазматической и митохондриальной изоформ КФК [17]. Авторы при этом отмечают, что диетические добавки 2% креатина значительно подавляют воспаление слизистой и патологическое течение ДСН-индуцированного колита у мышей, посредством активирования энергетических процессов через систему креатин – КФК. Кроме того, это может быть связано с антиоксидантными свойствами самого креатина, который может препятствовать развитию оксидативного стресса [20, 33]. Показано, что митохондриальная КФК, включаясь в цикл АТФ-АДФ, также снижает уровень активных форм кислорода в митохондриях [26]. В кортиколимбической

системе мышц I группы активность КФК снижалась в 2.9, 5.5, 3.4 и 2.8 раза в гомогенатах ПФК, стриатума, гиппокампа и гипоталамуса соответственно, по сравнению с контролем, достигая примерно одинаковой величины во всех исследуемых отделах с нивелированием регионспецифических различий.

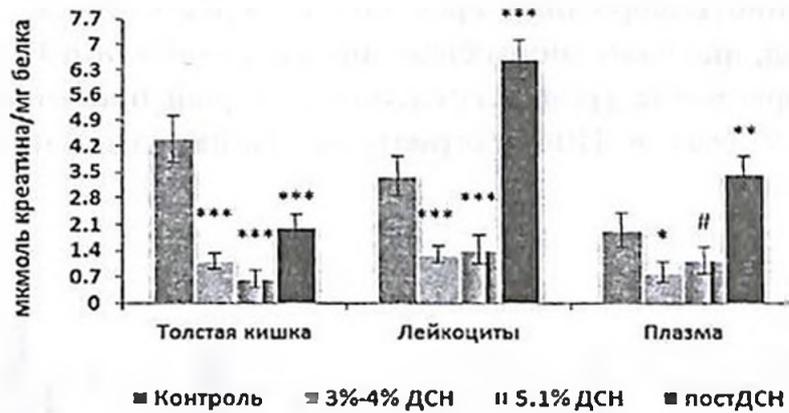


Рис. 4. Содержание креатина в толстой кишке, лейкоцитах и плазме крови при ДСН-индуцированном НЯК

Любопытно, что в ПФК и гипоталамусе мышей II группы наблюдалась полностью противоположная картина – заметное возрастание активности фермента в 2.4 и 1.7 раза, соответственно по сравнению с контролем, при отсутствии изменений в стриатуме и гиппокампе (рис. 5). Именно в ПФК и гипоталамусе животных II группы детектируется и повышенная активность процессов ПОЛ, как они связаны с креатин–КФ–КФК системой при НЯК – еще предстоит выяснить. В постДСН период, активность КФК нормализовалась в ПФК и гипоталамусе, однако в стриатуме несмотря на возрастание была в 2.4 раза ниже нормы, а в гиппокампе превышала последнюю в 1.8 раза.

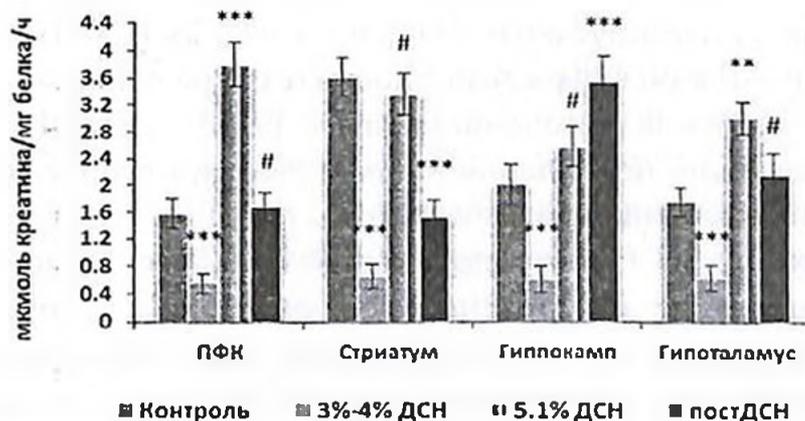


Рис. 5. Креатинфосфокиназная активность в кортиколимбической системе при ДСН-индуцированном НЯК

На рис. 6 представлены данные по изучению содержания креатина в вышеуказанных отделах мозга. В I и II группах уровень креатина снижался в равной степени, а именно: в стриатуме, гиппокампе и гипоталамусе примерно вдвое, а в ПФК в 2.8 раза по сравнению с контролем, тогда как в ПФК животных II группы наблюдалось вдвое меньшее снижение содержания креатина по сравнению с I группой. В постДСН период, на фоне нормализации состояния ЖКТ, наблюдалось выраженное возрастание уровня креатина, который превышал норму в 1.2, 1.5, 1.9 и 1.9 раза в ПФК, стриатуме, гиппокампе и гипоталамусе соответственно.

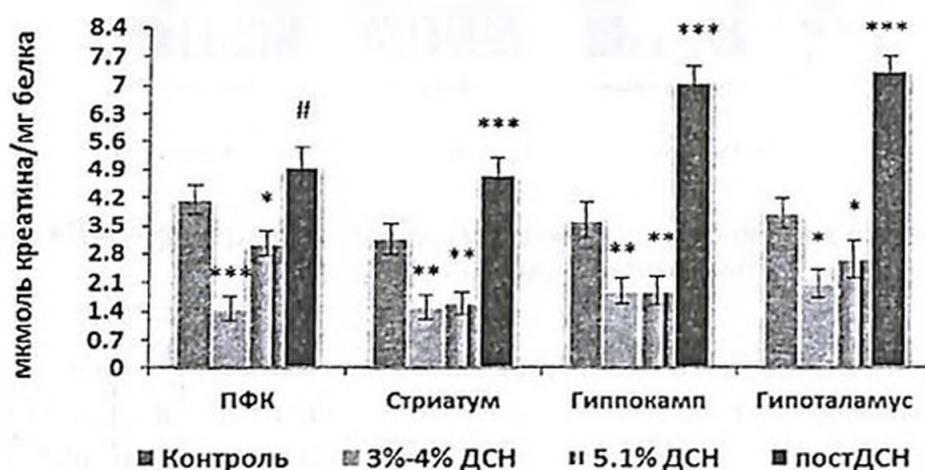


Рис. 6. Содержание креатина в кортиколимбической системе при ДСН-индуцированном НЯК

В ЦНС мышей и крыс креатин *in vivo* поглощается из крови против градиента концентрации, но несмотря на то, что специфический транспортер креатина, SLC6A8, синтезируется в эндотелии микрокапилляров гематоэнцефалического барьера, он отсутствует в астроцитах и их отростках, выстилающих эндотелий, что затрудняет транспорт периферического креатина, синтезируемого в печени и почках [29]. В то же время в ЦНС экспрессируются оба фермента биосинтеза креатина, они в основном пополняют пул креатина в головном мозге [7]. В ходе ДСН-индуцированного НЯК возможно подавление их активности, которое отражается на профиле креатина в кортиколимбической системе.

Таким образом, ДСН-индуцированный НЯК мягкого течения сопровождается нарушениями резидентной микрофлоры, со стимулированием роста оппортунистического микроорганизма, кандиды и манифестацией патогенных золотистого стафилококка и гемолитической кишечной палочки, а также признаками бактериальной транслокации. Одновременно просходит активирование процессов свободнорадикального окисления и подавление системы креатин – КФ – КФК не только в тканях толстой

кишки, но и лейкоцитах крови и отделах кортиколимбической системы мозга, вовлеченных в механизмы формирования эмоций и консолидации памяти. Регенерация эпителия толстой кишки сопровождается подавлением воспалительного процесса, восстановлением микробиоты и тенденцией к нормализации исследуемых метаболических путей в кишечнике, крови и ЦНС, которые отражают взаимодействие в системе кишечник-кровь-мозг. Дальнейшее изучение системных нарушений метаболизма, вызванных воспалением ЖКТ, позволит определить соответствующие терапевтические мишени для профилактики, лечения и предотвращения рецидивов НЯК и сопутствующих нарушений в ЦНС.

*Поступила 05.09.16*

**Լիպիդների գերօքսիդացումը և կրեատինկինազի  
ակտիվությունը աղի-արյուն-զլխուղեղ համակարգում  
դեքստրան սուլֆատ նատրիումով ինդուկցված ոչ սպեցիֆիկ  
խոցային կոլիտի դինամիկայում**

**Ա.Գ. Գևորգյան, Ն.Խ. Ալշուշյան, Ա.Ա. Աղաբաբովա, Լ.Ա. Բարսեղյան,  
Ի.Վ. Հովսեփյան, Մ.Ռ. Հովհաննիսյան, Մ.Ս. Մացոյան,  
Մ.Ի. Աղաջանով**

Մեղմընթաց ոչ սպեցիֆիկ խոցային կոլիտը ինդուկցվել է դեքստրան սուլֆատ նատրիումի աղի (ԴՄՆ) ներմուծման երկու ռեժիմով՝ 3% -4 % ԴՄՆ՝ 10 օր; 5.1% ԴՄՆ՝ 5 օր: Քրոնիկ բորբոքման և վերականգնման գործընթացները գնահատելու համար մկները հետազոտվել են ներմուծման ավարտից անմիջապես հետո և 2 շաբաթ անց: Կախված ներմուծման ռեժիմից և հիվանդության ակտիվության ինդեքսից փոփոխվում է տեղային միկրոբիոտան և երևան են գալիս պաթոգեն մանրէներ, խթանվում են լիպիդների գերօքսիդացման պրոցեսները և նվազում է կրեատինկինազի ակտիվությունը ու կրեատինի մակարդակը հաստ աղիքում, արյան լեյկոցիտներում և պլազմայում, ինչպես նաև ուսուցման և հիշողության, զգացմունքների ու վարքի մեխանիզմների մեջ ներգրավված զլխուղեղի կեղևալիմբիկ հատվածներում: Բորբոքումը լիովին վերանում և միկրոբիոտան վերականգնվում է ԴՄՆ-ի ներմուծումը դադարեցնելուց հետո 14 օր անց: Միաժամանակ դիտվում է կենսաքիմիական պատկերի կարգավորման միտում: Տվյալները ցույց են տալիս, որ ԴՄՆ-ով ինդուկցված կոլիտի ընթացքում տեղի են ունենում համակարգային փոփոխություններ աղիներ-արյուն-զլխուղեղ առանցքում:

## Lipid peroxidation and creatine kinase activity in gut-blood-brain system in the dynamics of the dextran sulfate sodium induced non-specific ulcerative colitis

A. G. Gevorkyan, N. Kh. Alchujyan, A.A. Aghababova, L.A. Barseghyan, I.V. Hovsepyan, M.R. Hovhannisyan, M.S. Matsoyan, M.I. Aghajanov

A mild non-specific ulcerative colitis was induced in mice fed with dextran sulfate sodium salt (DSS) at two regimens (3%-4 % DSS for 10 days; 5.1% DSS for 5 days) and studied immediately at the end of DSS treatment, and two weeks later to assess colonic inflammation and recovery processes. DSS-induced colonic inflammation was accompanied by changes in resident microbiota and manifestation of pathogenic microbes attributed to regimen-dependent disease activity. Simultaneously, it has been observed a stimulation of lipid peroxidation processes and a decrease of both creatin kinase activity and creatine content in colon, blood leukocyte and plasma and brain corticolimbic regions contributed to learning and memory, emotion and behavior. Colonic inflammation completely disappeared and the microbiota, as well as the biochemical pattern studied normalized two weeks after cessation of DSS treatment. Taken together the data indicate that systemic changes could occur in the gut - blood - brain axis following DSS induced colitis.

### Литература

1. Агабабова А.А., Мовсесян Н.О., Акопян А.М., Авагян О.Х. Морфогистохимические изменения при асцитной карциноме Эрлиха на фоне воздействия кишечной палочки. Доклады НАН РА, 2013, т. 113 (3), с. 303–310.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
3. Грачев А.И. Гетерогенность и функциональная пластичность макрофагов второго типа активации. Автореф. дис. .... д.б.н., М., 2008.
4. Иванов И.И., Коровкин Б.Ф., Маркелов И.М. Введение в клиническую энзимологию. Л., 1974.
5. Питлик Т.Н., Булай П.М., Денисов А.А., Афанасенков Д.С., Черенкевич С.Н. Редокс-регуляция ионного гомеостаза в нейронах. Биохимия, 2009, т. 26 (2), с. 104–110.
6. Фрик Г., Прейснер З., Иенсен Г., Бурмейстер Ю. В кн.: Иммунологические методы. (под ред. Х. Фримеля). М., 1979.
7. Beard E., Braissant O. Synthesis and transport of creatine in the CNS: importance for cerebral functions. J. Neurochem., 2010, Vol. 115, p. 297–313.
8. Broadbent N.J., Gaskin S., Squire L.R., Klark R.E. Object recognition memory and the rodent hippocampus. Learn. Mem., 2010, Vol. 17, p. 5–11.
9. Brosnan J.T., Brosnan M.E. Creatine: endogenous metabolite, dietary, and therapeutic supplement. Annu. Rev. Nutr., 2007, Vol. 27, p. 241–261.

10. *Cawthorpe D., Davidson M.* Temporal comorbidity of mental disorder and ulcerative colitis. *The Permanente J.*, 2015, 19 (1), p. 52–57.
11. *Colgan, S. P., Curtis, V. F., Lanis, J. M., & Glover, L. E.* Metabolic regulation of intestinal epithelial barrier during inflammation. *Tissue Barriers*, 2015, 3 (1-2), p. 970936.
12. *Cryan J.F., O'Mahony S.M.* The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behavior. *Neurogastroenterol. Motil.*, 2011, 23(3), p. 187–192.
13. *Danese S., Fiocchi C.* Ulcerative Colitis. *N.Engl. J. Med.*, 2011, 365 (18), p. 1713-1725.
14. *Emerit J., Edeas M., Bricaire F.* Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomed. Pharmacother.*, 2004, 58 (1), p. 39–46.
15. *Gallardo-Soler A., Gomez-Nieto C., Campo M.L., Marathe C., Tontonoz P., Castrillo A., Corraliza I.* Arginase I induction by modified lipoproteins in macrophages: a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma/delta-mediated effect that links lipid metabolism and immunity. *Mol. Endocrinol.*, 2008, 22 (6), p. 1394–1402.
16. *Grenham S., Clarke G., Cryan J.F., Dinan T.G.* Brain–gut–microbe communication in health and disease. *Front. Physiol.*, 2011, Vol. 2, p. 1–15.
17. *Glover L.E., Bowers B.E., Saeedi B., Ehrentraut S.F., Campbell E.L., Bayless A.J., Colgan S.P.* Control of creatine metabolism by HIF is an endogenous mechanism of barrier regulation in colitis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, 110 (49), p. 19820–19825.
18. *Gutowski M., Kowalczyk S.* A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *Acta Biochim. Pol.*, 2013, Vol. 60, p. 2–16.
19. *Holdeman, L.V., W.E.C. Moore* (ed.) Anaerobe laboratory manual. V.P.I. Anaerobe Laboratory. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, 1972.
20. *Lawler J.M., Barnes W.S., Wu, G., Song, W., Demaree S.* Direct antioxidant properties of creatine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, 290 (1), p. 47–52.
21. *Le TH.* Ulcerative colitis. eMedicine 2010. <http://emedicine.medscape.com/article/183084-overview>.
22. *Loh G., Blaut M.* Role of commensal gut bacteria in inflammatory bowel diseases. *Gut Microbes*, 2012, 3(6), p. 544–555.
23. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, Vol. 193, p. 265–275.
24. *Lu C., Chan S.L., Fu W., Mattson M.P.* The lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal facilitates opening of voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels in neurons by increasing protein tyrosine phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 2002, Vol. 277 (27), p. 24368–24375.
25. *Matthiesen S., Lindemann D., Warnken M., Juergens U.R., Racke K.* Inhibition of NADPH oxidase by apocynin inhibits lipopolysaccharide (LPS) induced up-regulation of arginase in rat alveolar macrophages. *Eur. J. Pharmacol.*, 2008, 579 (1-3), p. 403–410.
26. *Meyer L.E., Machado L.B., Santiago A.P., da-Silva W.S., de Felice F.G., Holub O., Oliveira M.F., Galina A.* Mitochondrial creatine kinase activity prevents reactive oxygen species generation: Antioxidant role of mitochondrial kinase-dependent ADP re-cycling activity. *J. Biol. Chem.*, 2006, 281(49), p. 37361–37371.
27. *Mitrovic M., Shahbazian A., Bock E., Pabst M. A., Holzer P.* Chemo-nociceptive signalling from the colon is enhanced by mild colitis and blocked by inhibition of transient receptor potential ankyrin 1 channels. *Br. J. Pharmacol.*, 2010, 160 (6), p. 1430–1442.
28. *Ogino K., Takahashi N., Takigawa T.* Association of serum arginase I with oxidative stress in a healthy population. *Free Radic. Res.*, 2011, v. 45, p. 147–155.
29. *Ohtsuki S.* New aspects of the blood-brain barrier transporters; its physiological roles in the central nervous system. *Biol. Pharm. Bull.*, 2004, Vol. 27, p. 1489–1496.
30. *Okayasu I., Hatakeyama S., Yamada M., Ohkusa T., Inagaki Y., Nakaya R.A.* Novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterol.*, 1990, 98, p. 694-702.

31. *Opava E.C.* Oxidative stress. *Dis. Mon.*, 2006, 52, p. 183–198.
32. *Rhee S.H., Pothoulakis C., Mayer E.A.* Principles and clinical implications of the brain–gut–enteric microbiota axis. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2009, 6, p. 306–314.
33. *Tokarska-Schlattner M., Epand R.F., Meiler F., Zandomenighi G., Neumann D.* Phosphocreatine interacts with phospholipids, affects membrane properties and exerts membrane-protective effects. *PLoS ONE*, 2012, v. 7 (8), p. 43178.
34. *Turner J.R.* Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009, 9 (11), p. 799–809.
35. *Wallimann T., Tokarska-Schlattner M., Schlattner U.* The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids.*, 2011;40(5):1271–1296.
36. *Weisser S.B., Kozicky L.K., Brugger H.K., et al.* Arginase activity in alternatively activated macrophages protects PI3Kp110 $\delta$  deficient mice from dextran sodium sulfate induced intestinal inflammation. *Eur. J. Immunol.*, 2014, 44 (11), p. 3353-3367.