

DOI 10.31718/2077-1096.25.189

УДК 616.348-002.44-078-092.9

Васильєва І.М., Наконечна О.А., Ярмиш Н.В., Денисенко С.А.

**ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ ЗАПАЛЕННЯ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ІНДУКОВАНИМ ВИРАЗКОВИМ КОЛІТОМ**

Харківський національний медичний університет, Україна

*Вступ.* Запальні захворювання кишківника формуються під впливом комплексу ендогенних і екзогенних чинників, унаслідок чого розвивається неконтрольована запальна реакція слизової оболонки. Одним із ключових напрямів дослідження патогенезу таких захворювань є вивчення змін рівня прозапальних цитокінів і ферментів. Визначення концентрації фактора некрозу пухлини  $\alpha$ , активності металопротеїнази та вмісту ліпополісахариду є інформативними маркерами розвитку запалення і деструктивних процесів у кишковій стінці. Мета дослідження – оцінити вміст ліпополісахариду, фактора некрозу пухлини  $\alpha$  та активність металопротеїнази-9 як маркерів і потенційних активаторів прозапальних шляхів у щурів із експериментальним колітом, індукованим 2,4-динітробензолсульфоною кислотою (ДНБС). Матеріали та методи. Дослідження проведено на 18 статевозрілих самцях щурів лінії WAG (190–240 г, 4 міс.), яких утримували у стандартних умовах віварію. Тварин поділено на три групи по шість: у першій (контрольній) ректально вводили 0,9 % фізіологічний розчин, у другій – 50% етанол, у третій – розчин 2,4-динітробензолсульфоною кислоти (10 мг у 250 мкл 50% етанолу) протягом 14 днів. Визначення вмісту ліпополісахариду, фактора некрозу пухлини  $\alpha$  і активності металопротеїнази-9 у сироватці крові проводили з використанням комерційних наборів ELISA (Abbexa, США; Labor Diagnostika Nord, Німеччина; Fine Test, Корея) на аналізаторі Stat Fax 1904 згідно з інструкціями виробників. Результати. У тварин із ДНБС-індукованим колітом виявлено достовірне підвищення рівнів ліпополісахариду та фактора некрозу пухлини  $\alpha$  порівняно з обома контрольними групами. У другій контрольній групі (етанол) також зафіксовано зростання цих показників, що свідчить про його додаткову прозапальну дію. Активність металопротеїнази-9 зростала як у тварин із етаноловим впливом, так і при введенні 2,4-динітробензолсульфоною кислоти, проте між цими групами статистично значущої різниці не виявлено. Висновки. Підвищення рівня ліпополісахариду, фактора некрозу пухлини  $\alpha$  та активності металопротеїнази-9 у сироватці крові підтверджує активацію запальних механізмів при ДНБС-індукованому коліті. Отримані результати вказують, що 50 % етанол сам по собі може виступати чинником ушкодження слизової та посилення запального процесу в кишківнику.

Ключові слова: виразковий коліт, запальні захворювання кишківника, етанол, ліпополісахарид, фактор некрозу пухлини  $\alpha$ .

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано в рамках науково дослідної теми кафедри біологічної хімії ХНМУ «Біохімічні механізми індукції запалення кишківника та засоби його корекції», № державної реєстрації 0120U102645.

Всі матеріали поширюються на умовах ліцензії Creative Commons Attribution License International CC-BY, яка дозволяє іншим розповсюджувати роботу з визнанням авторства цієї роботи і першої публікації в цьому журналі © Всі автори, 2025

Надійшла/Received: 10.09.2025. Прийнята/Accepted: 9.10.2025. Опублікована/Published: 27.11.2025.

**Вступ**

До запальних захворювань кишківника (ЗЗК) відносять хронічні, рецидивуючі та прогресуючі ураження його слизової оболонки [1, 2]. Найрозповсюдженими патологічними станами є хвороба Крона, виразковий коліт, невизначений коліт і неklasифікований коліт. Представлені види патологічних станів відрізняються за клінічними та гістологічними характеристиками [3]. На сьогодні майже 10 мільйонів людей в усьому світі страждають на запальні захворювання кишківника, однією з розповсюджених форм яких є виразковий коліт [4]. Дана патологія супроводжується діареєю, втратою ваги, ректальною кровотечею, що погіршують якість життя людини [5]. У 2005 році була затверджена Монреальська класифікація виразкового коліту (ВК), яка є діючою на теперішній час [6]. Так, згідно класифікації за ступенем ураження, виділяють три підтипи: E1 – виразковий проктит, при якому уражується лише

пряма кишка; E2 – лівобічний ВК, патологічний процес охоплює частину товстої кишки, розташованої віддалено від селезінкового вигину; E3 – панколіт, при якому ураження розповсюджується проксимальніше селезінкового вигину. Враховуючи важкість ураження кишківника, виділяють чотири підтипи: C0- клінічна ремісія; C1- легка форма ВК; C2 – помірний ВК; C3 – тяжка форма ВК [2, 6].

На ступень та важкість даного патологічного стану впливають як екзогенні (алкоголь, соціальні умови, паління, дієта), так й ендогенні (генетичні особливості, порушення кровопостачання товстої кишки, системні захворювання, вроджені аномалії розвитку кишківника, хронічні стреси та дисфункція нервової системи) фактори. Згідно науковим дослідженням багатьох авторів, ЗЗК є складним та багатофакторним захворюванням, що призводить до неконтрольованої активації кишкової імунної системи проти нефізіологічної мікробіоти та інших мішеней [3, 7].

Мікробіота кишківника підтримує сталий гомеостаз та відіграє ключову роль в фізіологічних аспектах життєдіяльності людини, а також забезпечує синтез вітамінів та їхніх активних форм, вивільнення енергії з поживних речовин, нормалізацію процесу всмоктування нутрієнтів, тощо [8, 9], приймає участь в підтримці цілісності кишкової оболонки та регуляції метаболічних та імунних відповідей [10]. Окрім дисбактеріозу кишківника, нездорове харчування або вживання алкоголю можуть підвищувати рівень прозапальних чинників і пов'язаних із ними молекул у плазмі крові, спричиняючи запалення [11]. Однією з головних причин патологічної імунної відповіді при ЗЗК розглядаються зміни в метаболізмі коротколанцюгових жирних кислот, зміни в обміні амінокислоти триптофану та порушення в обміні жовчних кислот внаслідок активації різних регуляторних шляхів через фактори NF- $\kappa$ B, SIRT1, CARD3, STAT3 [12]. Згідно наукової літератури, вимірювання вмісту прозапального фактору некрозу пухлини альфа та активності металопротеїнази є доступними та інформативними маркерами розвитку запальних реакцій як результату зміни імунної відповіді на патологічні процеси в кишківнику. Таким чином, ЗЗК є результатом комплексної дії як екзогенних, так й ендогенних чинників, в основі механізму патогенезу яких лежить неконтрольована запальна реакція тканин кишківника.

#### Мета роботи

Визначення вмісту ліпополісахариду, фактору некрозу пухлини  $\alpha$  (ФНП $\alpha$ ) та активності металопротеїнази-9 як маркерів/активаторів прозапальних шляхів у щурів з експериментальним колітом, викликаним введенням 2,4-динітробензолсульфоновою кислотою.

#### Матеріали та методи дослідження

Дослідження було проведено на 18 статевозрілих самцях-щурах популяції WAG, вагою 190–240 гр, віком 4 місяця. Тварини утримувалися у стандартних умовах віварію Харківського національного медичного університету.

Згідно завдання дослідження, експериментальних тварин рандомно було поділено на три групи, по шість тварин у кожній. У першу (контрольну) групу увійшли тварини, яким ректально за допомогою зонда вводили 0,9% фізіологічний розчин, другу контрольну групу склали тварини, яким ректально вводили 50% розчин етанолу; тваринам третьої експериментальної групи ректально вводили 2,4-динітробензолсульфоновою кислоту (ДНБС) (10 мг ДНБС, розчинених у 250 мкл 50 % етилового спирту) впродовж 14 днів

[13, 14]. На 15-ту добу тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом.

Для визначення вмісту ліпополісахариду (ЛПС), ФНП $\alpha$  та активності металопротеїнази-9 (ММП-9) у сироватці крові експериментальних тварин використовували набори реагентів виробництва ELISA Kit (Abbeba, США), «Labor Diagnostika Nord GmbH&Co.KG.» (Німеччина) та «Fine Test» (Корея), відповідно, з подальшим вимірюванням на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 1904 згідно інструкцій, що додавалися до наборів.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми GraphPad Prism 5 Software (США). Порівняння між двома незалежними групами змінних проводили за допомогою непараметричного U-критерію Манна-Уїтні.

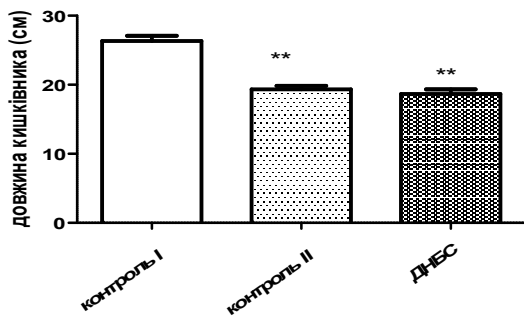
Дослідження проводилося відповідно до Директиви ЄС 2010/63/ЄС про захист тварин, що використовуються в наукових цілях, та Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (ETS123) та було схвалено Комісією з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету (протокол № 5 від 17 вересня 2019 р).

#### Результати дослідження

У експериментальному дослідженні на моделі ВК, індукованого ДНБС, морфометричними методами було виявлено скорочення довжини товстої кишки у тварин як другої контрольної, так і експериментальної груп (рис. 1). Також треба зазначити, що впродовж експерименту в вищезазначених групах виявлялася ректальна кровотеча.

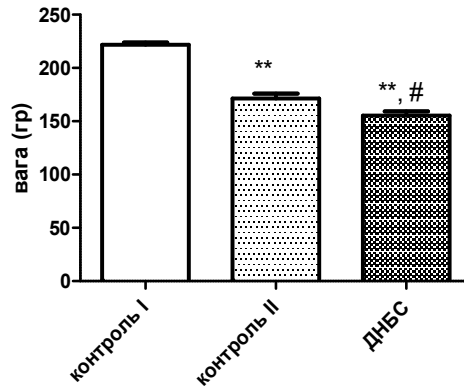
На третю добу від початку експерименту у тварин другої контрольної групи та у тварин, що увійшли до групи з ДНБС-індукованим колітом, спостерігалось зниження ваги по відношенню до першої контрольної групи, які впродовж експерименту, навпаки, набирали вагу (рис. 2).

Згідно отриманим результатам експериментального дослідження, рівень ЛПС у сироватці крові щурів був достовірно підвищений як в другій контрольній групі з введенням 50% розчину етанолу, так й в експериментальній групі з введенням ДНБС по відношенню до першої контрольної групи з введенням 0,9% фізіологічного розчину на 56,41 та 67,24 %, відповідно ( $P < 0,01$ ). У порівнянні вмісту ЛПС у другій контрольній групі до вмісту цього показника в групі щурів з індукованим ВК, спостерігається вірогідне підвищення рівня ЛПС у тварин з ДНБС-індукованим колітом на 27,84% ( $P < 0,05$ ) (рис. 3).



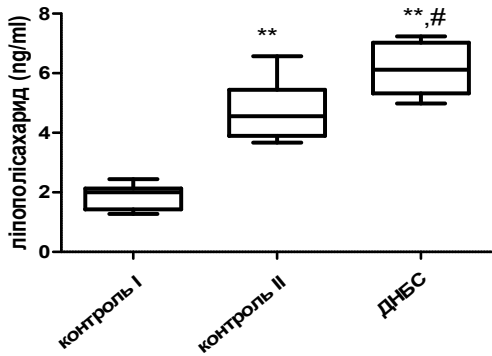
**Рис. 1.** Довжина товстого кишківника (в см) щурів контрольних груп та щурів з хронічним ВК, викликаним введенням ДНБС

Примітка: \*\* -  $p < 0,01$  у порівнянні з показниками першої контрольної групи.



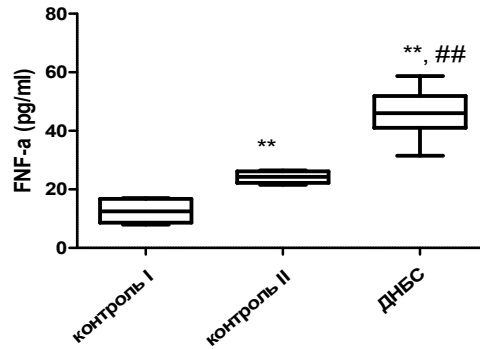
**Рисунок 2.** Вага щурів (гр) в контрольних групах та в експериментальній моделі з введенням ДНБС

Примітка: \*\* -  $p < 0,01$  у порівнянні з показниками першої контрольної групою; # -  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками другої контрольної групи.



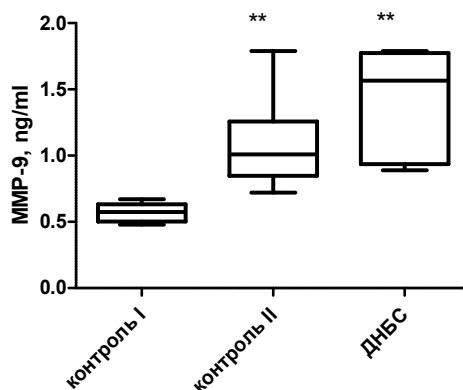
**Рис. 3.** Вміст ліпополісахариду (нг/мл) у сироватці крові щурів в контрольних групах та в експериментальній моделі з введенням ДНБС

Примітки: \*\* -  $p < 0,01$  у порівнянні з показниками першої контрольної групою; # -  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками другої контрольної групи.



**Рисунок 4.** Рівень фактору некрозу пухлини альфа (ФНПа) (пг/мл) у сироватці крові щурів в контрольних групах та в експериментальній моделі з введенням ДНБС.

Примітки: \*\* -  $p < 0,01$  у порівнянні з показниками першої контрольної групою; ## -  $p < 0,01$  у порівнянні з показниками другої контрольної групи.



**Рис. 5.** Активність металопротеїнази-9 (ММП-9) у сироватці крові щурів в контрольних групах та в експериментальній моделі з введенням ДНБС.

Примітка: \*\* -  $p < 0,01$  у порівнянні з показниками першої контрольної групи.

В експерименті з індукованим ВК було визначено рівень ФНПа в усіх досліджених групах. Так, виявлено підвищений рівень ФНПа у щурів другої контрольної та експериментальної груп порівняно з контрольною групою з введення 0,9% фізіологічного розчину на 48,54 та 72,84%, відповідно ( $P < 0,01$ ). У групі тварин з ДНБС-індукованим ВК виявлено достовірне підвищення рівнів ФНПа порівняно з групою тварин з введенням 50 % розчину етанолу в 47,23% ( $P < 0,01$ ) (рис. 4).

У ході експерименту на щурах з модельованим неспецифічним ВК, спричиненим введенням ДНБС, визначалася активність ММП-9 у сироватці крові для оцінки стану прозапальних процесів. Так, активність ММП-9 у сироватці крові тварин другої контрольної та експериментальної груп була статистично підвищена ( $P < 0,01$ ) порівняно з першою контрольною групою на 43,07% та 63,26%, відповідно. Дослідження показали також відсутність різниці в активності ММП-9 у крові щурів другої контрольної групи та групи з ДНБС-індукованим колітом (рис. 5).

#### Обговорення

За сучасними уявленнями, в основі патогенезу ЗЗК лежать наступні процеси: проникнення внутрішнього вмісту кишківника з просвіту кишки в тканини, що забезпечуються змінами мікробіоти та щільності контактів ендотеліальних клітин кишківника, порушення секреції прозапальних цитокінів макрофагами та зміна компенсаторної імунної реакції, що призводить до хронічного запального стану [15].

Певний склад мікробіоти є мікробним бар'єром кишківника, який захищає організм від проникнення в порталний кровотік внутрішнього вмісту кишки та патогенів [16]. Так, корисна мікробіота (грампозитивні мікроорганізми) здійснює імуносупресорний ефект та зумовлює диференціювання певних імунних клітин [17], але під час запального процесу в кишківнику знижується колонізація фізіологічної мікробіоти, наприклад *Bifidobacterium longum*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia intestinalis* [18]. У той же час активне зростання колоній грамнегативних анаеробних мікроорганізмів, типу *Bacteroides fragilis*, викликає активацію експресії прозапальних цитокінів імунними клітинами [19].

За даними наукової літератури, ЛПС є термо-стабільним гліколіпідом, компонентом зовнішньої мембрани клітинної стінки грамнегативних (анаеробних) бактерій. Грампозитивні бактерії не мають у своїй структурі даного компоненту, за виключенням *Listeria monocytogenes* [20]. Відомо, що ЛПС складається з трьох доменів: ліпиду А, основного олігосахариду та антигену О [21]. Саме ліпід А, як гідрофобна складова частина ЛПС, володіє найбільшою імуногенною властивістю [22]. Але із-за варіабельності активації процесів ацилювання і фосфорилування

можуть виникати відмінності в структурі цього компонента, що може призводити до різної імуногенності ЛПС [23]. Ця особливість ЛПС робить його показником наявності грамнегативних бактерій в організмі та використовується як маркер запального процесу. За даними Park B.S. та Lee <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4931227/> - bib116 J.O. (2013) відомо, що компонент ліпід А запускає запальну реакцію в організмі за умов формування комплексу з Toll-подібними рецепторами (ТТР), які виявляються на макрофагах та дендритних клітинах [24]. Згідно отриманих нами даних, рівень ЛПС підвищується у сироватці крові щурів у другій контрольній групі з введенням 50% етанолу та у експериментальній групі щурів з ДНБС-індукованим ВК. Ці результати вказують на можливі зміни у якісному та кількісному складі мікробіоти тварин та на розвиток запального процесу.

Індукція ТТР-сигналізації, викликана ЛПС, призводить до активації синтезу прозапальних медіаторів (ФНПа, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-23) і макрофагальних запальних протеїнів (MIP-1 $\alpha$  та MIP-1 $\beta$ ), що підвищує проникність слизової оболонки кишківника [25]. Визначення рівня ФНПа в усіх досліджених групах було обрано як один з показників наявності запального процесу. В експерименті спостерігалось достовірне підвищення рівня ФНПа як в другій контрольній, так і в експериментальній групах по відношенню до контрольної групи з введення 0,9% фізіологічного розчину, що, вірогідно, свідчить про активацію запального процесу. Отримані дані узгоджуються з результатами попередніх наших досліджень щодо вимірювання рівнів протапротизапальних цитокінів на експериментальній моделі ВК, індукованого ДНБС [26].

Відомо, що ензим ММП-9, який володіє як проапоптичною, так й протиапоптичною активностями, бере участь у змінах складу позаклітинного матриксу, а саме в процесах ремоделювання тканин та в прогресуванні патологічних станів, одними з яких є запальні процеси [27]. Даний ензим регулюється гормонами, цитокінами та фактором росту [28], що синтезуються ендотеліальними клітинами кишківника, фібробластами, нейтрофілами, макрофагами. У попередніх наших дослідженнях показаний підвищений відсоток нейтрофілів у цільній крові щурів з ДНБС-індукованим ВК [Васильєва стаття подана до друку], що може вказувати на підвищену активність ММП в цих клітинах крові. Згідно отриманим даним в представленій роботі, активність ММП-9 була підвищеною у сироватці крові щурів другої контрольної групи та експериментальної групи з ДНБС-індукованим колітом. Результати можуть вказувати на активацію запального процесу за рахунок підвищеної активності ММП-9, яка посилює таксис лейкоцитів до місця запалення, що також узгоджується з даними інших авторів [29].

Щодо дії алкоголю на розвиток запального

процесу в товстій кишці [30], відомо про те, що він здатний впливати на якісні та кількісні зміни мікробіоти різними шляхами [15], та таким чином модулювати імунні відповіді [31] та ініціювати розвиток та перебіг запальних процесів [32]. Відповідно отриманим нами результатам, вміст ЛПС і ФНПα та активність ензиму ММП-9 були підвищеними у щурів другої контрольної групи та експериментальної групи з введенням ДНБС, розведеного в 50% етанолі, в порівнянні з першою контрольною групою, що може вказувати на ураження кишківника безпосередньо самим етанолом. Стосовно різниці вмісту ЛПС та ФНПα, вона була більш статистично підвищеною у тварин з ДНБС-індукованим колітом порівняно з тваринами другої контрольної групи, що вказує на більш пошкоджуючий ефект ДНБС та вплив на розвиток запального процесу в товстій кишці щурів.

### Висновки

Таким чином, в представленій роботі вміст ЛПС в сироватці крові щурів був підвищений у другій контрольній та експериментальній групах, що може вказувати на розвиток запального процесу. Виразковий коліт, викликаний введенням ДНБС, супроводжується підвищеним синтезом ФНПα як в групі з введенням 50% етанолу, так й в групі з ДНБС-індукованим колітом, що вказує на пошкоджуючу дію не тільки загальноприйнятого чинника - ДНБС, але й етанолу, на прогресування запального процесу в кишківнику. В експериментальній моделі виразкового коліту, нами було визначено підвищену активність ММП-9 у другій контрольній та експериментальній групах тварин, що також може підтверджувати активацію запальної реакції.

### ORCID авторів

Nakonechna Oksana – 0000-0002-2614-1587  
 Vasylyeva Irina – 0000-0002-4475-167X  
 Yarmysh Natalia – 0000-0003-2798-4575  
 Denysenko Svitlana – 0000-0002-8457-4436

### Перспективи подальших досліджень

Дослідити показники оксидантної та антиоксидантної системи у щурів з експериментальним хронічним виразковим колітом.

### Конфлікт інтересів

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів

### Особистий внесок авторів

Васильєва І.М.: а) концепція та дизайн; б) збір та узагальнення даних; в) аналіз та інтерпретація результатів; г) написання рукопису.

Наконечна О.А.: а) концепція та дизайн; г) редагування рукопису; д) остаточне затвердження рукопису.

Ярмиш Н.В.: а) концепція та дизайн; г) написання рукопису.

Денисенко С.А.: а) концепція та дизайн; г) редагування рукопису;

### References

1. Le Berre C, Honap S, Peyrin-Biroulet L. Ulcerative colitis. *Lancet*. 2023 Aug 12;402(10401):571-584. doi: 10.1016/S0140-6736(23)00966-2
2. Lee H-S, Cleynen I. Molecular Profiling of Inflammatory Bowel Disease: Is It Ready for Use in Clinical Decision-Making? *Cells*. 2019;8:535. doi: 10.3390/cells8060535
3. Saez A, Herrero-Fernandez B., Gomez-Bris R, Sánchez-Martinez H, Gonzalez-Granado JM. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease: Innate Immune System. *Int J Mol Sci*. 2023;24:1526. doi: 10.3390/ijms24021526
4. Wangchuk P, Yeshi K, Loukas A. Ulcerative colitis: clinical biomarkers, therapeutic targets, and emerging treatments. *Trends Pharmacol Sci*. 2024;45(10):892-903. doi: 10.1016/j.tips.2024.08.003
5. Gros B, Kaplan GG. Ulcerative Colitis in Adults: A Review. *JAMA*. 2023 Sep 12;330(10):951-965. doi: 10.1001/jama.2023.15389
6. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel J. The Montreal Classification of Inflammatory Bowel Disease: Controversies, Consensus, and Implications. *Gut*. 2006;55:749-753. doi: 10.1136/gut.2005.082909
7. Glassner KL, Abraham BP, Quigley EMM. The Microbiome and Inflammatory Bowel Disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;145:16-27. doi: 10.1016/j.jaci.2019.11.003
8. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res*. 2020;30(6):492-506. doi: 10.1038/s41422-020-0332-7
9. Rastelli M, Cani PD, Knauf C. The gut microbiome influences host endocrine functions. *Endocr Rev*. 2019;40(5):1271-1284. doi: 10.1210/er.2018-00280
10. Spivak I, Fluhr L, Elinav E. Local and systemic effects of microbiome-derived metabolites. *EMBO Rep*. 2022;23:e55664. doi: 10.15252/embr.202255664
11. Leclercq S, de Timary P, Delzenne NM, Starkel P. The link between inflammation, bugs, the intestine and the brain in alcohol dependence. *Transl Psychiatry* 2017;7:e1048. doi: 10.1038/tp.2017.15
12. Qiu P, Ishimoto T, Fu L, Zhang J, Zhang Z, Liu Y. The Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:733992. doi: 10.3389/fcimb.2022.733992
13. Morampudi V, Bhinder G, Wu X, Dai C, Sham HP, Vallance BA, Jacobson K. DNBS/TNBS colitis models: providing insights into inflammatory bowel disease and effects of dietary fat. *J Vis Exp*. 2014 Feb 27;(84):e51297. doi: 10.3791/51297
14. Wallace JL, Le T, Carter L, Appleyard CB, Beck PL. Hapten-induced chronic colitis in the rat: alternatives to trinitrobenzene sulfonic acid. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 1995;33(4):237-9. doi: 10.1016/1056-8719(95)00001-x
15. Chen G, Shi F, Yin W, Guo Y, Liu A, Shuai J, Sun J. Gut microbiota dysbiosis: The potential mechanisms by which alcohol disrupts gut and brain functions. *Front Microbiol*. 2022;13:916765. doi: 10.3389/fmicb.2022.916765
16. Lavelle A, Hoffmann TW, Pham HP, Langella P, Guedon E, Sokol H. (2019). Baseline Microbiota Composition Modulates Antibiotic-Mediated Effects on the Gut Microbiota and Host Microbiome. 2019;7(1):111. doi: 10.1186/s40168-019-0725-3
17. Allen-Vercoe E, Coburn B. A Microbiota-Derived Metabolite Augments Cancer Immunotherapy Responses in Mice. *Cancer Cell*. 2020;38(4):452-453. doi: 10.1016/j.ccell.2020.09.005
18. Vich Vila A, Imhann F, Collij V, Jankipersadsing SA, Gurry T, Mujagic Z, et al. Gut Microbiota Composition and Functional Changes in Inflammatory Bowel Disease and Irritable Bowel Syndrome. *Sci Transl Med*. 2018;10(472):eaap8914. doi: 10.1126/scitranslmed.aap8914
19. Stappenbeck TS, Virgin HW. Accounting for Reciprocal Host-Microbiome Interactions in Experimental Science. *Nature*. 2016;534(7606):191-199. doi: 10.1038/nature18285
20. Mak KM, Shekhar AC. Lipopolysaccharide, arbiter of the gut-liver axis, modulates hepatic cell pathophysiology in alcoholism. *Anat Rec (Hoboken)*. 2025;308(3):975-1004. doi: 10.1002/ar.25562
21. Knirel YA, Anisimov AP, Kislichkina AA, Kondakova AN, Bystrova OV, Vagaiskaya AS, et al. Lipopolysaccharide of the Yersinia Pseudotuberculosis Complex. *Biomolecules*. 2021;11:1410. doi: 10.3390/biom11101410
22. Bertani B, Ruiz N. Function and Biogenesis of Lipopolysaccharides. *EcoSal Plus*. 2018;8(1):10.1128/ecosalplus.ESP-0001-2018. doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0001-2018
23. Mohr AE, Crawford M, Jasbi P, Fessler S, Sweazea KL. Lipopolysaccharide and gut microbiota: consideration of structural variations. *FEBS Lett*. 2022;596:849-875. doi: 10.1002/1873-3468.14328
24. Park BS, Lee JO. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Exp Mol Med*. 2013;45:e66. doi: 10.1038/emmm.2013.97
25. Nighot M, Rawat M, Al-Sadi R, Castillo EF, Nighot P, Ma TY. Lipopolysaccharide-Induced Increase in Intestinal Permeability Is Mediated by TAK-1 Activation of IKK and MLCK/MYLK Gene. *Am J*

- Pathol. 2019 Apr;189(4):797-812. doi: 10.1016/j.ajpath.2018.12.016
26. Vasylyeva I, Nakonechna O, Popova L, Yarmysh N, Bezrodna A, Pustova N. Blood serum interleukins levels and their relationship with colon tissue prostanoids in experimental ulcerative colitis. *Wiad Lek.* 2024;77(9):1712-1717. doi: 10.36740/WLek/192139.
  27. Chen Y, Wang W, Liu F, Tang L, Tang R, Li W. Apoptotic effect of matrix metalloproteinase 9 in the development of diabetic retinopathy. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015 Sep 1;8(9):10452-9.
  28. Rashid ZA, Bardaweel SK. Novel Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) Inhibitors in Cancer Treatment. *Int J Mol Sci.* 2023;24(15):12133. doi: 10.3390/ijms241512133
  29. Vandooren J, Knoops S, Buzzo JLA, Boon L, Martens E, Opendakker G, et al. Differential Inhibition of Activity, Activation and Gene Expression of MMP-9 in THP-1 Cells by Azithromycin and Minocycline versus Bortezomib: A Comparative Study. *PLoS ONE.* 2017;12:e0174853. doi: 10.1371/journal.pone.0174853
  30. Wang SC, Chen YC, Chen SJ, Lee CH, Cheng CM. Alcohol Addiction, Gut Microbiota, and Alcoholism Treatment: A Review. *Int J Mol Sci.* 2020 Sep 3;21(17):6413. doi: 10.3390/ijms21176413
  31. Zhang P, Yang M, Chen C, Liu L, Wei X, Zeng S. Toll-like receptor 4 (TLR4)/opioid receptor pathway crosstalk and impact on opioid analgesia, immune function, and gastrointestinal motility. *Front Immunol.* 2020;11:1455. doi: 10.3389/fimmu.2020.01455
  32. Gracie DJ, Hamlin PJ, Ford AC. The influence of the brain-gut axis in inflammatory bowel disease and possible implications for treatment. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2019 4 632-642. doi: 10.1016/s2468-1253(19)30089-

### Summary

#### ASSESSMENT OF INFLAMMATORY MARKERS IN RATS WITH EXPERIMENTALLY INDUCED ULCERATIVE COLITIS

Vasylyeva I., Nakonechna O., Yarmysh N., Denysenko S.,

Key words: ulcerative colitis, inflammatory bowel diseases, ethanol, lipopolysaccharide, metalloproteinase-9, tumor necrosis factor  $\alpha$ .

**Introduction.** Inflammatory bowel diseases develop under the combined influence of endogenous and exogenous factors, leading to an uncontrolled inflammatory response of the intestinal mucosa. One of the key directions in studying their pathogenesis involves the assessment of changes in the levels of proinflammatory cytokines and enzymes. Determination of tumor necrosis factor  $\alpha$ , matrix metalloproteinase activity, and lipopolysaccharide concentration serves as an informative approach for evaluating inflammation and destructive processes in the intestinal wall.

**Objective.** The aim of the study was to assess the content of lipopolysaccharide, tumor necrosis factor  $\alpha$ , and matrix metalloproteinase-9 activity as potential markers and activators of proinflammatory pathways in rats with experimental colitis induced by 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid.

**Materials and methods.** The study was conducted on eighteen adult male rats of the WAG strain (body weight 190–240 grams, age 4 months), kept under standard vivarium conditions. The animals were randomly divided into three groups of six. The first (control) group received 0.9 % physiological saline rectally, the second group received 50 % ethanol, and the third group was administered a solution of 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid (10 milligrams dissolved in 250 microliters of 50 % ethanol) for fourteen days. The concentrations of lipopolysaccharide and tumor necrosis factor  $\alpha$  and the activity of matrix metalloproteinase-9 in blood serum were measured using commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits (Abbexa, United States; Labor Diagnostika Nord, Germany; Fine Test, Republic of Korea) on a Stat Fax 1904 microplate reader in accordance with the manufacturers' protocols.

**Results.** Rats with colitis induced by 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid demonstrated a significant increase in serum levels of lipopolysaccharide and tumor necrosis factor  $\alpha$  compared with both control groups. An elevation of these parameters was also observed in the ethanol control group, indicating its additional proinflammatory effect. The activity of matrix metalloproteinase-9 increased in both ethanol-treated and 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid-treated animals; however, no statistically significant difference between these groups was detected.

**Conclusion.** The observed elevation of lipopolysaccharide, tumor necrosis factor  $\alpha$ , and matrix metalloproteinase-9 activity in the serum confirms activation of inflammatory mechanisms in colitis induced by 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid. The findings suggest that 50 % ethanol alone may act as a mucosal-damaging agent and contribute to the enhancement of the intestinal inflammatory response.