

H₂S-ЗВ'ЯЗАНИЙ НЕСТЕРОЇДНИЙ ПРОТИЗАПАЛЬНИЙ ПРЕПАРАТ АТВ-346 ВОЛОДІЄ ЗНИЖЕНОЮ ГАСТРОТОКСИЧНІСТЮ ПОРІВНЯНО З ВПЛИВОМ ЙОГО СТРУКТУРНОГО АНАЛОГА НАПРОКСЕНУ

У дослідженнях, проведених на щурах, порівнювали вплив неселективного інгібітора ЦОГ-1/ЦОГ-2 напроксену і його структурного аналога, що містив гідроген сульфід, – АТВ-346 на процеси ліпопероксидації та продукцію нітроген (II) оксиду. Відзначено гастропротекторну дію АТВ-346, яка проявлялась зменшенням площі пошкоджень слизової оболонки шлунка, що може бути пов'язано зі зростанням вмісту гідроген сульфід у слизових оболонках шлунка і товстої кишки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нестероїдні протизапальні препарати, нітроген (II) оксид, гідроген сульфід, слизова оболонка шлунка, слизова оболонка товстої кишки.

ВСТУП. Незважаючи на успіхи сучасної клінічної гастроентерології, виразкові захворювання травного тракту й надалі є широко розповсюдженими, а дослідження біохімічних механізмів, що лежать в їх основі, залишаються актуальним питанням сьогодення [2]. Біохімічні механізми, що призводять до виразкових дефектів різних відділів травного тракту (шлунка, дванадцятипалої і товстої кишок), мають особливості, проте основним рушієм ульцерогенезу є порушення рівноваги між захисними чинниками та факторами агресії [13]. До найпоширеніших чинників агресії належать: застосування нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП), дія стресу, порушення мікробіоценозу, а також споживання алкоголю та нерациональне харчування [5].

У регуляції процесів цитопротекції та ульцерогенезу значну роль відіграють так звані газові медіатори, до яких належать нітроген (II) оксид (NO) та гідроген сульфід (H₂S). NO бере участь у численних фізіологічних процесах – регуляції кровотоку, секреції залоз, моториці, міжклітинній комунікації тощо [10]. Ульцерогенез як у шлунку, так і в товстій кишці супроводжується різким зростанням його синтезу, і за таких умов NO перетворюється на високотоксичні радикали, зокрема на пероксинітрит [9]. H₂S бере активну участь у механізмах захисту слизових оболонок шлунка (СОШ) і товстої кишки (СОТК) від чинників агресії, діючи як вазодилататор,

нейромодулятор. Окрім цього, H₂S проявляє антиоксидантну, антиапоптичну та протизапальну дію не лише у травному тракті, але й в інших тканинах [7, 12]. Проте, якщо концентрація H₂S зростає, останній має токсичний ефект.

З іншого боку, в попередніх дослідженнях показано, що використання НПЗП супроводжується зниженням рівня H₂S [11], що може слугувати додатковим механізмом їх ульцерогенного впливу. Тому застосування H₂S-зв'язаних НПЗП може значною мірою запобігати такій дії. З існуючих нині H₂S-зв'язаних НПЗП найкраще описано створений на основі напроксену препарат – АТВ-346 ([4-тіокарбамойлфеніловий ефір 2-(6-метоксинафтален-2-іл)-пропіонової кислоти]), якому притаманні протизапальні властивості базової молекули [11].

У нещодавно проведених дослідженнях показано існування взаємозв'язку між синтезом H₂S та NO в органах травної системи, зокрема доведено, що H₂S знижує експресію iNOS [8]. Проте механізми зазначеного взаємозв'язку і його роль у регуляції цитопротекції та ульцерогенезу в шлунку і товстій кишці за умов використання НПЗП залишаються маловивченими.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконано на 45 щурах згідно з міжнародними умовами проведення експериментів з лабораторними тваринами. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію, для проведення досліду тварин брали натще, забезпечували безперешкодний доступ до води.

Тварин було поділено на 3 групи: 1-ша – інтактні; 2-га – щури, яким вводили НПЗП напроксен (неселективний інгібітор циклооксигенази); 3-тя – щури, які отримували АТВ-346 (H₂S-зв'язаний НПЗП). Досліджувані НПЗП вводили в дозі 10 мг/кг per os у вигляді суспензії об'ємом 1 мл. Через 24 год щурів декапітували на тлі знеболювання розчином тіопенталу натрію (40 мг/кг маси тіла тварини), приготованим на 0,9 % розчині NaCl і введеним внутрішньочеревно в об'ємі 1 мл. Виділяли шлунок і товсту кишку, промивали 0,9 % розчином NaCl. При транслюмінаційному освітленні визначали площу структурно-геморагічних ушкоджень (СГУ) СОШ.

У гомогенатах СОШ та СОТК визначали інтенсивність процесів ліпопероксидації на основі вмісту продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК) за методом М. А. Тимурбулатова [4].

Рівень NO у гомогенатах тканин оцінювали за вмістом нітрит-аніона (NO₂⁻), використовуючи реактив Грісса [6]. Концентрацію H₂S визначали за реакцією з N,N-диметил-пара-фенілєндіаміном за присутності FeCl₃ [1].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента за допомогою програми "StatPlus 2009".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Введення напроксену супроводжувалось розвитком СГУ, представлених глибокими ерозіями та виразками (рис.) загальною площею (18±3,9) мм². Натомість АТВ-346 не викликав розвитку значних ушкоджень СОШ. Загальна площа СГУ при його введенні була у 8 разів меншою, ніж при введенні напроксену, і становила (2,2±0,9) мм². Такі особливості впливу АТВ-346, імовірно, зумовлені цитопротекторною дією H₂S.

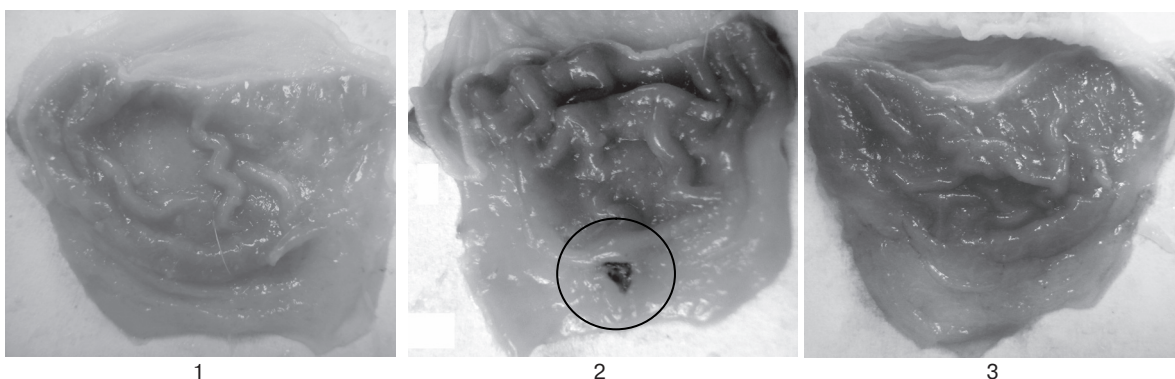


Рис. Макроскопічні зміни в слизовій оболонці шлунка: 1 – інтактні тварини; 2 – введення напроксену; 3 – вплив АТВ-346.

Рівень продуктів ТБК у СОШ інтактних тварин становив (209,8±8,9) мкмоль/г (табл. 1). Він зростав при введенні обох досліджуваних НПЗП, вказуючи на активування процесів ліпопероксидації, зокрема при неселективному інгібуванні ЦОГ напроксеном рівень продуктів ТБК збільшувався на 27 % (p<0,01). Аналогічні зміни спостерігали і в СОТК (табл. 2), де рівень продуктів ТБК статистично достовірно підвищу-

вався приблизно на 15 % в обох групах тварин, які отримували НПЗП. При цьому слід зазначити, що макроскопічних ушкоджень поверхні товстої кишки не було виявлено.

Розвиток СГУ при введенні напроксену супроводжувався незначним зростанням концентрації NO₂⁻ в обох досліджуваних тканинах. Подібні зміни спостерігали і за умов впливу АТВ-346. Імовірно, така синергічність впливу

Таблиця 1 – Вміст продуктів ТБК, NO₂⁻ та H₂S у слизовій оболонці шлунка

Група тварин	Інтактні	Напроксен	АТВ-346
Продукти ТБК, мкмоль/г	209,8±10,2	266,6±13,1*	271,2±11,4*
NO ₂ ⁻ , мкмоль/г	15,2±1,9	18,3±1,31	19±1,99
H ₂ S, мкмоль/г-год	26,66±1,97	21,84±1,06	27,33±2,0

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * p<0,05 порівняно з інтактними тваринами.

Таблиця 2 – Вміст продуктів ТБК, NO₂⁻ та H₂S у слизовій оболонці тонкої кишки

Група тварин	Інтактні	Напроксен	АТВ-346
Продукти ТБК, мкмоль/г	240,7±5,0	280±8,4*	274±9,1*
NO ₂ ⁻ , мкмоль/г	17,6±1,3	18,0±0,7	19,4±1,3
H ₂ S, мкмоль/г-год	27,55±2,24	26,56±1,8	29,72±2,56

обох досліджуваних НПЗП доводить домінуючий вплив базової молекули НПЗП напроксену на функціонування NO-синтазної системи, що було описано раніше [3, 7].

За умов одноразового введення напроксену концентрація H_2S знижувалась у СОШ на 18 %, тоді як у СОТК вона залишалась практично незмінною. При застосуванні H_2S -зв'язаного НПЗП АТВ-346 рівень H_2S зростає і досягає показників інтактних тварин.

ВИСНОВКИ. Введення напроксену зумовлювало розвиток СГУ в СОШ і супроводжувалося посиленням процесів ліпопероксидації як у СОШ, так і в СОТК. Дія напроксену призводила також до зниження концентрації

H_2S в обох досліджуваних тканинах. Це, ймовірно, є одним із додаткових чинників ульцерогенезу в травному тракті, оскільки такі цитопротекторні ефекти H_2S , як антиоксидантна дія, вплив на регуляцію тонуусу судин тощо, змінюються.

Було встановлено вплив базової молекули напроксену при дії АТВ-346 на концентрацію NO та рівень процесів ліпопероксидації. Імовірно, H_2S , вивільнений із АТВ-346, брав участь у реалізації цитопротекторних ефектів, не пов'язаних із функціонуванням NO-синтазної системи, це, зокрема, інгібування адгезії лейкоцитів, підвищення кровотоку, які в кінцевому результаті супроводжуються зменшенням площі СГУ в шлунку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ольховський О. С. Вплив пропаргілгліцину та натрію гідрогенсульфіду на вміст H_2S і показники про-антиоксидантної системи в міокарді щурів різного віку / О. С. Ольховський, Н. В. Заїчко // Мед. хімія. – 2013. – **15**, № 4 (57). – С. 10–16.
2. Особливості впливу нестероїдних протизапальних препаратів на показники NO-синтазної системи у слизовій оболонці шлунка щурів за умов стресу / І. С. Фоменко, Т. І. Бондарчук, Л. П. Білецька [та ін.] // Фізіол. журн. – 2014. – **60**, № 2. – С. 51–56.
3. Склярів А. Я. Нестероидные противовоспалительные средства, механизмы их действия, особенности использования / А. Я. Склярів, И. С. Фоменко // Практ. медицина. – 2007. – **14**, № 3. – С. 123–132.
4. Тимурбулатов М. А. Метод повышения свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение / М. А. Тимурбулатов, Е. И. Селезнев // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209–211.
5. Coruzzi G. Gastrointestinal safety of novel nonsteroidal anti-inflammatory drugs: selective COX-2 inhibitors and beyond / G. Coruzzi, N. Venturi, S. Spaggiari // Actabiomedical. – 2007. – **78**. – P. 96–110.
6. Green L. C. Analysis of nitrate, nitrite and (15N) nitrate in biological fluids / L. C. Green, A. V. David // Analytical Biochemistry. – 1982. – **126**. – P. 131–138.
7. H_2S -Releasing Aspirin Protects against Aspirin-Induced Gastric Injury via Reducing Oxidative Stress / L. Liu, J. Cui, Ch.-J. Song [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – № 7.
8. Kolluru G. K. A tale of two gases: NO and H_2S , foes or friends for life? / G. K. Kolluru, X. Shen, C. G. Kevil // Redox Biology. – 2013. – **1**. – P. 313–318.
9. Lanas A. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract / A. Lanas // Arthritis Research & Therapy. – 2008. – **10**, 2., – P. 4.
10. Lundberg J. O. Biology of nitrogen oxides in the gastrointestinal tract / J. O. Lundberg, E. Weitzberg // Gut. – 2013. – **62**. – P. 616–626.
11. Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (АТВ-346) / J. L. Wallace, G. Caliendo, V. Santagada, G. Cirino // British Journal of Pharmacology. – 2010. – **159**. – P. 1236–1246.
12. Predmore B. L. Hydrogen Sulfide in Biochemistry and Medicine / B. L. Predmore, D. J. Lefer, G. Gojon // Antioxid. Redox. Signal Journal. – 2012. – **17**. – P. 119–140.
13. Tarnawski A. Gastric Cytoprotection Beyond Prostaglandins: Cellular and Molecular Mechanisms of Gastroprotective and Ulcer Healing Actions of Antacids Current Pharmaceutical Design / A. Tarnawski, A. Ahluwalia, M. K. Jones. – 2013. – **7**. – P. 126–132.

Н. В. Денисенко, И. С. Фоменко, Ю. М. Федевич, А. Я. Скляров
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

H₂S-СВЯЗАННЫЙ НЕСТЕРОИДНЫЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПРЕПАРАТ АТВ-346 ОБЛАДАЕТ СНИЖЕННОЙ ГАСТРОТОКСИЧНОСТЬЮ В СРАВНЕНИИ С ВЛИЯНИЕМ ЕГО СТРУКТУРНОГО АНАЛОГА НАПРОКСЕНА

Резюме

В исследованиях, проведенных на крысах, сравнивали влияние неселективного ингибитора ЦОГ-1/ЦОГ-2 напроксена и его структурного аналога, содержащего водорода сульфид, – АТВ-346 на процессы липопероксидации и продукцию оксида азота (II). Отмечено гастропротекторное действие АТВ-346, которое проявлялось уменьшением площади поврежденной слизистой оболочки желудка, что может быть связано с увеличением содержания водорода сульфид в слизистых оболочках желудка и толстой кишки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нестероидные противовоспалительные препараты, оксид азота (II), водорода сульфид, слизистая оболочка желудка, слизистая оболочка толстой кишки.

N. V. Denysenko, I. S. Fomenko, Yu. M. Fedevych, O. Ya. Sklyarov
DANYLO HALYTSKY LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

H₂S-RELEASING NON-STEROIDAL ANTIINFLAMMATORY DRUG ATB-346 HAS LOWER GASTROTOXICITY COMPARED WITH STRUCTURE ANALOGUE NAPROXEN

Summary

The aim of our study was to compare the changes in gastric and colon mucosa after the treatment with non-selective inhibitor of COX-1/COX-2 naproxen and it's structural analogue, the compound containing hydrogen sulfide – ATB-346 on the lipid peroxidation and production of nitric oxide. It was shown, that ATB-346 poses the gastroprotective effect, realized by decrease of the area of gastric mucosa damage, as compared to naproxen. This effect was associated with the increase of hydrogen sulfide concentration in mucous membranes.

KEY WORDS: nonsteroidal anti-inflammatory drugs, nitrogen oxide, hydrogen sulfide, gastric mucosa, mucosa of the colon.

Отримано 29.07.14

Адреса для листування: Н. В. Денисенко, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.