

Н. І. Волощук, І. В. Таран

Гастротоксична дія диклофенаку натрію на тлі дефіциту та надлишку гідроген сульфїду в есперименті

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

Ключові слова: гастротоксичність, диклофенак натрію, гідроген сульфїд, пропаргїлгліцин, секреторно-моторна функція шлунково-кишкового тракту

Нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) відносять до числа ефективних симптоматичних препаратів для купірування болю, лихоманки та запалення. Вони є основною фармакотерапевтичною групою для тривалого лікування хронічного больового синдрому, а також захворювань опорно-рухового апарату [1–3]. Проте прийом НПЗЗ часто супроводжується розвитком побічних реакцій (ПР), однією з основних є негативний вплив на слизову оболонку шлунка, а саме розвиток НПЗЗ-гастропатій. Цьому сприяє безконтрольне використання безрецептурних препаратів даної групи, що ставить під загрозу здоров'я населення [3–5]. Частий безсимптомний перебіг, великий ризик маніфестації у вигляді шлунково-кишкових кровотеч, тривала непрацездатність хворих, а також великі економічні витрати зумовлюють актуальність проблеми НПЗЗ-гастропатії та її медико-соціальне значення [1, 2]. Існуючі в Україні та світі методи профілактики НПЗЗ-залежного ульцерогенезу не зовсім задовільняють лікарів і пацієнтів та спонукають до подальших досліджень у цьому напрямі. В основі НПЗЗ-залежного ульцерогенезу лежить розбалансування в системі захисту слизової оболонки шлунково-кишкового тракту (ШКТ) та дія агресивних чинників, зокрема, НПЗЗ. Поряд із простагландинами, ліпоксинами, важливу роль у забезпеченні цитопротекції шлунка відіграють інші фізіологічні месенжери, одним із яких є гідроген сульфїд (H_2S), що забезпечує захисні властивості слизової оболонки шлунка (СОШ). Він також

бере участь у регуляції судинного тону, скоротливості міокарда, нейротрансмісії, секреції інсуліну, проявляє здатність модулювати активність запального процесу тощо [6–8]. Депримуючий вплив на рівень гідроген сульфїду є одним із механізмів протизапальної дії НПЗЗ [9], а метаболічні зміни, які при цьому виникають, залучені в патогенез НПЗЗ-гастропатій. Нестача H_2S спостерігається при легеневій гіпертензії, хворобі Альцгеймера, порушеннях цілісності слизової оболонки шлунка та цирозі печінки, міокардальній ішемії, атеросклерозі, гіпергомоцистеїнемії. З іншого боку, надмірна продукція H_2S залучена до патогенезу запальних захворювань, септичного шоку, коліту, мозкового інсульту, розумової недорозвиненості в пацієнтів із хворобою Дауна [7, 8]. Усі ці стани, як і значна кількість інших, можуть супроводжуватись одночасним використанням НПЗЗ. Однак питання, як буде змінюватись токсичність цього класу лікарських засобів, зокрема, пошкоджуюча дія на ШКТ за умов дефіциту та надлишку гідроген сульфїду, залишається відкритим.

Мета дослідження – оцінити зміни пошкоджуючої дії диклофенаку натрію на шлунково-кишковий тракт у щурів на тлі введення донора гідроген сульфїду ($NaHS$) та інгібітора його синтезу (пропаргїлгліцину).

Матеріали та методи. Дослідження проведено на самцях білих нелінійних щурів масою 180–210 г. Тварин утримували на стандартному раціоні з доступом до води *ad libitum*, при температурі 22 ± 5 °C із 12-годинним освітленням в умовах віварію Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова. Усі експерименти проведені відповідно до «Положення

про використання тварин в біомедичних дослідках». Надлишок та дефіцит гідроген сульфід у тварин створювали внутрішньоочеревинним введенням донору гідроген сульфід – NaHS (Sigma, США) у дозі 1,5 мг/кг на фосфатному буфері (рН 7,4), а також специфічного інгібітора синтезу цього газотрансмітера, пропаргілгліцину (Sigma, США), у дозі 50 мг/кг протягом 5 днів. Уміст гідроген сульфід в сироватці крові визначали спектрофотометричним методом за реакцією між сульфід аніоном та парафенілєндіамін-гідрохлоридом у кислому середовищі в присутності іонів заліза (III) [10].

Для оцінки гастротоксичної дії досліджуваного НПЗЗ піддослідних тварин було розподілено на декілька груп. I група – інтактний контроль (отримували еквівалентну кількість розчинників). Тваринам II групи внутрішньошлунково вводили диклофенак натрію («Вольтарен», Novartis) 8 мг/кг на 1 % крохмальному гелі протягом 5 днів. Щурам III та IV груп цей НПЗЗ вводили на тлі надлишку та дефіциту гідроген сульфід відповідно. Тварини V та VI груп із надлишком та дефіцитом H_2S були додатковими контролями. В окремій частині дослідів диклофенак натрію у вищезазначеному режимі вводили через 0,5 год після інтрагастрального введення натрію гідроген сульфід (4 мг/кг). Досліджувані речовини вводили в умовно терапевтичних дозах (1/20 від LD_{50}), запозичених із літератури, або розрахованих попередньо [11, 12]. Евтаназію тварин здійснювали шляхом цервікальної дислокації згідно із вимогами біоетики. Шлунки вилучали, розрізали за великою кривизною, промивали, проводили візуальне дослідження СОШ, оцінювали кількість виразок, важкість виразкоутворення та виразковий індекс (ВІ), який вираховували за формулою [Яковлева, 2001 р.]. Визначення секреторної функції шлунка проводили за методом [11]. Піддослідних щурів витримували 48 год на голодній дієті без обмеження пиття води. Через 1 год після останнього внутрішньошлункового введення тваринам досліджуваних сполук та їхніх композицій, щурів наркотизували внутрішньоочеревинним

введенням нембуталу (40 мг/кг), розтинали черевну порожнину, накладали лігатуру на пілоричний сфінктер шлунка, а через 4 год накладали лігатуру на кардіальний сфінктер. Тварин виводили з експерименту за умов евтаназії, забирали шлунковий вміст та вимірювали об'єм шлункового соку, а також загальну кислотність шляхом титрування шлункового соку 0,1N розчином гідроксиду натрію в присутності фенолфталеїну. Вивчення евакуаторної функції шлунка та моторної функції кишечника визначали за допомогою методу «міток» [11]. Тварин протягом 24 год витримували на голодній дієті без обмеження питної води. Усім тваринам внутрішньошлунково вводили по 0,5 мл контрастної маси (10 % суспензію активованого вугілля в 1 % крохмальному гелі). Через 40 хв тварин виводили з експерименту за умов евтаназії нембуталом. Потім у дослідних та контрольних тварин вимірювали абсолютну довжину кишечника та шлях, пройдений контрастною масою по ньому (у см). Довжину кишечника, пройденого контрастною масою, відносно абсолютної довжини останнього виражали у відсотках.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційного та персентильного аналізу з використанням пакета прикладних програм Statistica 5.5, EXCEL for Windows 03. Кореляційний аналіз проводили з вираховуванням коефіцієнта кореляції (r) Пірсона. Вірогідність отриманих результатів оцінювали, використовуючи t-критерій Стьюдента та коефіцієнт Фішера. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при рівнях значущості < 0,05.

Результати та їх обговорення. Дослідження засвідчили, що в інтактних тварин середній вміст гідроген сульфід у сироватці крові становив $79,75 \pm 2,37$ мкмоль/л (табл.1). 5-разове щоденне внутрішньоочеревинне введення донору гідроген сульфід – натрію гідросульфід (NaHS) в розрахованій нами умовно терапевтичній дозі, яка становила 1/20 від LD_{50} [12], призводило до статистично вірогідного (на 13,8%) зростання рівня цього газотрансмітера в сироватці крові, а введення пропар-

гілгліцину (ППГ), селективного інгібітора синтеза ключового ензима-продукта H_2S – цистатионін-гама-ліази (ЦГЛ), – навпаки, вірогідно (на 23,9%) зменшувало його вміст у крові тварин. Тобто, введення $NaHS$ та ППГ створювало, відповідно, надлишок та дефіцит гідроген сульфїду в сироватці крові. Внутрішньошлункове введення диклофенаку натрію (група II) викликало виразні макро- та мікроскопічні зміни СОШ, при цьому в сироватці крові реєструвалося вірогідне зменшення вмісту гідроген сульфїду (на 18,4 %). У щурів із низьким рівнем H_2S у сироватці крові (група IV) гастротоксичність диклофенаку натрію проявлялася значно сильніше, ніж у тварин II групи: кількість виразок і важкість виразкоутворення були відповідно на 70,8 та 30,8 % більшими, ніж у групі II, а ВІ перевищував аналогічний показник групи порівняння в 1,6 разу. У групі III, тваринам якої диклофенак натрію вводили на тлі підвищеного рівня H_2S , показники враження СОШ були вірогідно меншими: кількість виразок і важкість ураження на 53,5 і 23,1 % менше, а ВІ у 1,8 разу меншим, ніж у групі II (табл. 1).

Персентильний і кореляційний аналізи також показали наявність чіткого зв'язку між ступенем виразності пошкоджуючої дії диклофенаку на СОШ та

рівнем гідроген сульфїду в сироватці крові та підтвердили наявність гастропротекторного ефекту донора H_2S за даних умов експерименту (табл. 2). Необхідно зазначити, що кількість виразок і важкість виразкоутворення, які викликав диклофенак, негативно корелювали з рівнем гідроген сульфїду. Уведення цього НПЗЗ щурам групи I, де рівень H_2S був найнижчим, викликало найвиразніше ушкодження СОШ. Тоді як в групі II, де рівень H_2S був на 32,3 % нижчим, кількість виразок і важкість ураження зменшувалися на 42,9 та 37,3 % відповідно, а в групі III, де вміст цього газотрансміттера був найвищим, ці показники були на 85,6 і 55,5 % нижчими, ніж у групі I.

Результати переконливо засвідчили, що рівень гідроген сульфїду в організмі суттєво впливає на виразність ульцерогенної дії диклофенаку натрію. Його вміст негативно корелює з ступенем пошкоджень СОШ, спричинених нестероїдним антифлогістиком. При цьому створення надлишку гідроген сульфїду шляхом 5-денного внутрішньоочеревинного введення його донору – $NaHS$ – зменшувало, тоді як введення специфічного інгібітора його синтезу – пропаргілгліцину, що призводить до дефіциту H_2S в організмі, навпаки, збільшувало виразність гастротоксичної дії досліджуваного НПЗЗ.

Таблиця 1

Прояви гастротоксичності диклофенаку натрію за умов введення щурам натрію гідроген сульфїду та пропаргілгліцину ($M \pm m, n = 10$)

Група	Умови досліджу	Уміст H_2S у сироватці крові, мкмоль/л	Показник гастротоксичності		
			Кількість виразок	Важкість ураження, бали	Виразковий індекс
I	Контроль	79,75 ± 2,37	0	0	0
II	Диклофенак натрію	65,10 ± 6,66 [#]	12,70 ± 0,61	1,30 ± 0,09	2,80 ± 0,33*
III	Диклофенак натрію + $NaHS$	86,90 ± 5,34*	5,90 ± 0,59*	1,00 ± 0,12*	1,53 ± 0,19*
IV	Диклофенак натрію + пропаргілгліцин	48,70 ± 3,37* [#]	21,70 ± 2,33*	1,70 ± 0,20	4,50 ± 0,17*
V	$NaHS$	90,30 ± 4,37 [#]	0	0	0
VI	Пропаргілгліцин	60,70 ± 5,75 [#]	0	0	0

Примітка. [#]Статистично значущі відмінності відносно контролю ($p \leq 0,05$),

*статистично значущі відмінності відносно диклофенаку ($p \leq 0,05$).

Залежність проявів диклофенак-індукованої гастропатії від вмісту H_2S у сироватці крові щурів ($M \pm m, n = 10$)

Показник	Уміст H_2S у сироватці крові, мкмоль/л			Кореляції з рівнем H_2S у сироватці крові
	1	2	3	
	0–25 перцентиль, n = 8	25–75 перцентиль, n = 14	75–100 перцентиль, n = 8	
	43,30 ± 1,70	57,30 ± 1,18*	72,00 ± 2,36**	
Кількість виразок шлунка	23,50 ± 4,23	13,40 ± 1,53*	3,38 ± 1,03**	- 0,64*
Важкість ураження шлунка	2,36 ± 0,48	1,48 ± 0,03	1,05 ± 0,19**	- 0,58*

Примітка. *Статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно 0–25 перцентилья;

**статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно 25–75 перцентилья.

Отримані результати спонукали нас до перевірки можливої гастропротективної дії H_2S за інших умов, а саме – за інтрагастрального введення донору $NaHS$ разом із диклофенаком натрію. Результати цього експерименту представлено в таблиці 3. Виявилось, що гідроген сульфід при внутрішньошлунковому введенні статистично вірогідно зменшував прояви ушкоджуючого впливу диклофенаку на СОШ. Так, кількість виразок і важкість виразкування зменшувалися на 47,5 та 28,5 % відповідно, а показник виразкового індексу був меншим у 1,5 разу порівняно з НПЗЗ.

При вивченні фармакологічних речовин, які можуть виявляти противиразкову дію, необхідним є вивчення впливу на секреторну та рухову активність травного каналу [11]. Тому на наступному етапі визначили, як будуть змінюватись ці показники під впливом досліджуваних сполук та їхніх комбінацій. Результати дослідження змін кислотоут-

ворюючої функції шлунка показано в таблиці 4. Не було виявлено вірогідних змін загального об'єму шлункового соку в жодній із груп тварин. Аналізуючи зміни загальної кислотності шлункового соку, можна відмітити, що 5-денне інтрагастральне введення донору гідроген сульфід показало тенденцію до зниження загальної кислотності (на 11,1 %), що узгоджується з даними літератури, які свідчать про дозозалежний характер антисекреторної дії H_2S через зниження виділення соляної кислоти, і одночасно, антацидну активність внаслідок збільшення продукції бікарбонатів [13, 14]. Натомість диклофенак натрію незначно підвищував загальну кислотність шлункового соку, вочевидь, внаслідок свого «кислотного» походження ($pH = 4,0$) та парасимпатикоміметичної дії на ШКТ [2]. Комплексне застосування диклофенаку натрію та гідроген сульфід не впливає на кислотність секрету шлунка (досліджуваний показник відрізняється від контролю на 6,9 %).

Таблиця 3

Прояви гастротоксичності за дії диклофенаку натрію, натрію гідроген сульфід та їхнього комплексного внутрішньошлункового застосування ($M \pm m, n = 10$)

Група	Умови досліджу	Показник гастротоксичності		
		Кількість виразок	Важкість ураження, бали	Виразковий індекс
I	Контроль	0	0	0
II	Диклофенак натрію (8 мг/кг в/шл)	14,50 ± 1,38	1,40 ± 0,08	3,40 ± 0,31
III	$NaHS$ (4 мг/кг в/шл)	0,10 ± 0,10*	0,10 ± 0,10*	0,01 ± 0,01*
IV	Диклофенак натрію (8 мг/кг в/шл) + $NaHS$ (4 мг/кг в/шл)	7,60 ± 1,08*	1,00 ± 0,12*	1,90 ± 0,25*

Примітка. *Статистично вірогідні відмінності відносно диклофенаку ($p \leq 0,05$).

Дослідження змін моторно-евакуаторної функції травного каналу (табл. 5) показало, що диклофенаку натрію при таманна здатність статистично вірогідно збільшувати моторику ШКТ (на 14,9 %) порівняно з контролем. Це співставляється з даними літератури та є одним із симптомів НПЗЗ-ентеропатії й клінічно підтвердженим діарейним синдромом при лікуванні НПЗЗ. Вочевидь це відбувається за рахунок стимуляції парасимпатичної нервової системи та активації М-холінорецепторів, що призводить до підвищення моторики та секреції ШКТ [2, 15]. На противагу цьому, натрій гідроген сульфід, який вводили щурам окремо, викликав (на 25,7 %) зниження моторики кишечника піддослідних тварин. У літературі також описана пряма дозозалежна міорелаксуюча дія H_2S на рухову активність кишечника, а саме – інгібування пропульсивної активності та підвищення амплітуди перистальтичних хвиль. Інгібуючий ефект на пропульсивну активність реалізується за рахунок гіперполяризації гладеньком'язових клітин та пригнічення відповіді на холінергічні стимули з ЦНС. Механізми, що залучені до цього

релаксуючого ефекту, до кінця не з'ясовані й можуть включати активацію фосфатази легких ланцюгів міозину, АТФ-чутливих калієвих кальцій-активованих каналів низької провідності, а також активацію натрієвих каналів [16]. У наших дослідженнях було встановлено, що комплексне 5-денне введення щурам натрію гідроген сульфід та диклофенаку в умовно терапевтичних дозах практично нівелювало зміни моторної функції кишечника тварин, які виникали під впливом монотерапії досліджуваними сполуками: довжина кишечника, пройдена контрастною речовиною, у цій групі тварин практично не відрізнялася від такої групи контролю.

Отже, нами були отримані дані, які доводять виразну гастропротективну дію гідроген сульфід. Захисна дія цього газотрансмітера може реалізовуватися через різні механізми: потужну вазодилатуючу та міорелаксантну дію, антисекреторні властивості, зменшення експресії або вивільнення проінфламаторних цитокінів, підвищення синтезу простагландинів, антиоксидантний та антиапоптичний ефекти, здатність стимулювати репаративні процеси та ін. [8, 14, 17, 18].

Таблиця 4

Секреторна функцію шлунка за дії диклофенаку натрію, натрію гідроген сульфід та їхнього комплексного внутрішньошлункового застосування ($M \pm m, n = 10$)

Експериментальна група (n = 10)	Секреція шлункового соку, мл/100 г маси тварини	Загальна кислотність, мл 0,1н NaOH/100 мл шлункового соку
Контроль	2,00 ± 0,18	127,2 ± 14,7
Диклофенак натрію (8 мг/кг)	2,18 ± 0,15	142,4 ± 15,0
NaHS (4 мг/кг)	2,26 ± 0,14	113,10 ± 6,90
Диклофенак натрію + NaHS	2,13 ± 0,11	135,10 ± 6,74

Таблиця 5

Моторно-евакуаторна функція шлунково-кишкового тракту за дії диклофенаку натрію, натрію гідроген сульфід та їхнього комплексного внутрішньошлункового застосування ($M \pm m, n = 10$)

Експериментальна група (n=10)	Загальна довжина кишечника, см	Довжина кишечника, пройдена контрастною речовиною	
		Абсолютне значення, см	%
Контроль	125,10 ± 5,34	79,80 ± 3,59	64,80 ± 4,09
Диклофенак натрію (8 мг/кг)	123,70 ± 3,99	91,70 ± 2,19*	74,40 ± 2,03*
NaHS (4 мг/кг)	126,30 ± 7,43	59,30 ± 5,24*#	47,60 ± 4,97*#
Диклофенак натрію + NaHS	125,60 ± 2,16	75,30 ± 3,40#	60,10 ± 2,70#

Примітка.*Статистично вірогідні відмінності відносно контролю ($p \leq 0,05$).

#статистично вірогідні відмінності відносно диклофенаку ($p \leq 0,05$).

Висновок

Рівень насиченості організму гідроген сульфідом суттєво модулює ступінь гастротоксичності диклофенаку натрію: дефіцит H_2S – збільшує, тоді як його надлишок, навпаки, зменшує пошкоджуючий вплив досліджуваного НПЗЗ на шлунок. Внутрішньошлункове введення донору гідроген сульфіду протягом 5 днів разом із диклофенаком натрію в умовно терапевтичних дозах (4 мг/кг та 8 мг/кг відповідно) практично не впливало на секреторну й моторну функції травного тракту щурів

та викликало вірогідно менші макроскопічні зміни в СОШ порівняно з ефектом нестероїдного антифлогістика.

Подальші поглиблені дослідження впливу різного рівня насиченості організму гідроген сульфідом на виразність фармакологічних ефектів та токсичність нестероїдних протизапальних засобів є пріоритетним напрямом для покращання персоналізованої фармакотерапії НПЗЗ, а також стануть підґрунтям для створення нових комбінованих засобів цього фармакологічного класу.

1. Свінціцький А. С. Гастропатії, зумовлені нестероїдними протизапальними препаратами: сучасний погляд на проблему / А. С. Свінціцький // «Новости медицины и фармации». Гастроэнтерология. – (239) 2008. – [Електронний ресурс <http://www.mif-ua.com/archive/article/4842>].
2. Викторов А. П. Контроль за безопасностью нестероидных противовоспалительных препаратов при медицинском применении / А. П. Викторов / Therpia. Український медичний вісник. – 2009. – № 3 (35). [Електроннийресурс<http://therpia.ua/>].
3. Кетова Г. Г. НПВП-ассоциированная патология верхних отделов ЖКТ: факторы риска, тактика ведения пациентов. Взгляд клинического фармаколога / Г. Г. Кетова, Ю. В. Астапенкова // РМЖ. – 2014, № 18. – С. 1326–1330.
4. Исаков В. А. Гастропатия, связанная с приемом нестероидных противовоспалительных препаратов: патогенез, лечение и профилактика / В. А. Исаков // Клиническая фармакология и терапия. – 2005. – № 14. – С. 85–91.
5. Ткач С. М. Современные подходы к профилактике и лечению НПВП-гастропатий / С. М. Ткач // Гастроэнтерология. – 2013. – № 4 (50). – С. 95–102.
6. Li L. Hydrogen sulphide-a novel mediator of inflammation? / Li L., Bhatia M., Moore P.K. // Curr. Opin. Pharmacol. – 2006. – V. 6, – № 2. – P. 125–129.
7. Łowicka E. Hydrogen sulfide (H_2S) – the third gas of interest for pharmacologists / Łowicka E., Bełtowski J. // Pharmacologicalreports. – 2007. – V. 59. – P. 4–24.
8. Synthesis and Biological Effects of Hydrogen Sulfide (H_2S): Development of H_2S -Releasing Drugs as Pharmaceuticals / G. Caliendo, G. Cirino, V. Santagada [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. – 2010. – V. 53, № 17. – P. 6275–6286.
9. Волошук Н. І. Гендерні відмінності в утворенні гідроген сульфіду та реалізації його вазорелаксуючого ефекту за умов введення диклофенаку натрію та геністеїну у щурів / Н. І. Волошук // Журнал Академії медичних наук України. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 138–48.
10. Заїчко Н. В., Пентюк Н. О., Мельник А. В. [Пат. України на корисну модель №52136 У МПК (2009) G01N 33/68. Спосіб визначення вмісту гідроген сульфіду в плазмі крові / заявник та патентовласник НДІ реабілітації інвалідів ВНМУ ім. М. І. Пирогова. – № u 201003158; заявл. 19.03.2010; опубл. 10.08.2010; Бюл. № 15. – 2 с.].
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : ВД «Авіцена», 2001. – С. 292–301.
12. Волошук Н. І. Гостра токсичність гідроген сульфіду та його вплив на протизапальний ефект диклофенаку в експерименті / Н. І. Волошук, І. В. Таран // Медична хімія. – 2011. – Т. 13, № 4 (49). – С. 88–91
13. Stimulation of duodenal HCO_3^- secretion by hydrogen sulphide in rats: Relation to prostaglandins, nitric oxide and sensory neurons / F. Ise, H. Takasuka, S. Hayashi [et al.] // Acta Physiologica. – 2011. – V. 201 (1). – P. 117–126.
14. Antisecretory effect of hydrogen sulfide on gastric acid secretion and the involvement of nitric oxide / S. A. Mard, H. Askari, N. Niloofar [et al.] // Biomed. Res. Int. [Published online. – 2014. doi: 10.1155/2014/480921].
15. Абдулганиева Д. И. Влияние нестероидных противовоспалительных препаратов на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта: взгляд клинициста / Д. И. Абдулганиева, Л. И. Мясоутова // Практическая медицина. Ревматология. – 2008, № 1 [Електронний ресурс <http://pmarchive.ru/>].
16. Effects of hydrogen sulphide on motility patterns in the rat colon / V. Gill, S. P. Parsons, D. Gallego [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2013. – V. 169. – P. 34–50.
17. Kimura Y. Hydrogen sulfide increases glutathione production and suppresses oxidative stress in mitochondria / Kimura Y., Goto Y., Kimura H. // Antioxid. Redox Signal. – 2010. – V. 12, № 1. – P. 1–13.
18. Reactivity of hydrogen sulfide with peroxyxynitrite and other oxidants of biological interest / Carballal S., Trujillo M., Cuevasanta E. [et al.] // Free Radical Biology & Medicine. – 2011. – V. 50. – P. 196–205.

Н. І. Волощук, І. В. Таран

Гастротоксична дія диклофенаку натрію на тлі дефіциту та надлишку гідроген сульфід у есперименті

Нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) – ефективні симптоматичні препарати для купірування болю, лихоманки та запалення, тривалий прийом яких часто супроводжується розвитком побічних реакцій, у тому числі гастропатій. Важливу роль у забезпеченні цитопротекції шлунка відіграють фізіологічні месенджери, одним з яких є гідроген сульфід (H_2S), який забезпечує захисні властивості СОШ. Депримиючий вплив на рівень гідроген сульфід є одним із механізмів протизапальної дії НПЗЗ, а метаболічні зміни, які при цьому виникають, залучені до патогенезу НПЗЗ-гастропатій.

Мета дослідження – оцінити зміни пошкоджуючої дії диклофенаку натрію на ШКТ у щурів на тлі введення донору гідроген сульфід ($NaHS$) та інгібітора його синтезу (пропаргілгліцину).

Дослідження проведені на самцях білих нелінійних щурів масою 180–210 г. Надлишок і дефіцит H_2S у тварин створювали внутрішньоочеревинним введенням $NaHS$ (1,5 мг/кг) та пропаргілгліцину (50 мг/кг) відповідно протягом 5 днів. Уміст H_2S у сироватці крові визначали спектрофотометричним методом. У частині дослідів диклофенак натрію у вищезазначеному режимі вводили через 0,5 год після внутрішньошлункового введення $NaHS$ (4 мг/кг). Досліджувані речовини вводили в умовно терапевтичних дозах (1/20 від LD_{50}). Було оцінено стан слизової оболонки шлунка, кислото-утворюючу функцію шлунка та моторну функцію кишечника. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартних методів біометрії з використанням пакета прикладних програм Statistica 5.5.

Створення дефіциту H_2S у щурів підвищувало гастротоксичність диклофенаку натрію: кількість виразок, важкість виразкоутворення в щурів цієї групи були на 70,8 та 30,8 % більшими, ніж у тварин з диклофенаком, а у тварин, які отримували донор гідроген сульфід внутрішньоочеревинно на 53,5 та 23,1 % меншими. Персентильний та кореляційний аналіз показав наявність чіткого зв'язку між ступенем виразності пошкоджуючої дії диклофенаку на СОШ та рівнем гідроген сульфід у сироватці крові та підтвердив наявність гастропротекторного ефекту донора H_2S за даних умов експерименту.

H_2S при внутрішньошлунковому введенні також статистично вірогідно зменшував ушкоджуючий вплив диклофенаку на СОШ: кількість виразок і важкість виразкування зменшувалися на 47,5 та 23,5 % відповідно, а виразковий індекс ставав меншим у 1,5 разу порівняно з монотерапією НПЗЗ. Водночас 5-денне внутрішньошлункове введення донору H_2S та диклофенаку практично не змінювали кислотність секрету шлунка та моторну функцію кишечника тварин.

Отже, рівень насиченості організму H_2S суттєво модулює ступінь гастротоксичності диклофенаку натрію: дефіцит H_2S збільшує пошкоджуючий вплив досліджуваного НПЗЗ на шлунок, тоді як надлишок його, навпаки, зменшує. Внутрішньошлункове введення донору гідроген сульфід протягом 5 днів разом із диклофенаком натрію в умовно терапевтичних дозах (4 мг/кг та 8 мг/кг відповідно) практично не впливало на секреторну та моторну функції травного тракту щурів та викликало вірогідно менші макроскопічні зміни в СОШ порівняно з ефектом нестероїдного антифлогістика.

Ключові слова: гастротоксичність, диклофенак натрію, гідроген сульфід, пропаргілгліцин, секреторно-моторна функція ШКТ

Н. И. Волощук, И. В. Таран

Гастротоксическое действие диклофенака натрия на фоне дефицита и избытка гидроген сульфида в эксперименте

Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) – эффективные симптоматические препараты для купирования боли, лихорадки и воспаления, длительный прием которых часто сопровождается развитием побочных реакций, в том числе гастропатией. Важную роль в обеспечении цитопротекции желудка играют физиологические мессенджеры, одним из которых является гидроген сульфид (сероводород, H_2S), обеспечивающий защитные свойства СОЖ. Депримирующее влияние на уровень гидроген сульфида является одним из механизмов противовоспалительного действия НПВП, а метаболические изменения, которые при этом возникают, вовлечены в патогенез НПВС-гастропатии.

Цель исследования – оценить изменения повреждающего действия диклофенака натрия на ЖКТ у крыс на фоне введения донора гидроген сульфида ($NaHS$) и ингибитора его синтеза (пропаргилглицина).

Исследования проведені на самцах белых нелинейных крыс массой 180–210 г. Избыток и дефицит H_2S у животных создавали внутрибрюшинным введением $NaHS$ (1,5 мг / кг) и пропаргилглицина (50 мг/кг) соответственно в течение 5 дней. Содержание H_2S в сыворотке крови определяли спектрофотометрическим методом. В части опытов диклофенак натрия в вышеупомянутом режиме вводили через 0,5 ч после внутрижелудочного введения $NaHS$ (4 мг/кг). Исследуемые вещества вводили в условно терапевтических дозах (1/20 от LD_{50}). Были оценены состояние слизистой оболочки желудка, кислотно-образующая функция желудка и моторика кишечника. Статистическую обработку результатов проводили с помощью стандартных методов биометрии с использованием пакета прикладных программ Statistica 5.5.

Создание дефицита H_2S у крыс повышало гастротоксичность диклофенака натрия: количество язв, тяжесть язвообразования у крыс этой группы были на 70,8 и 30,8 % больше, чем у животных с

диклофенаком, а у животных с избытком H_2S – на 53,5 и 23,1 % меньше. Персентильный и корреляционный анализы показали наличие четкой связи между степенью выраженности повреждающего действия диклофенака на СОШ и уровнем гидроген сульфида в сыворотке крови и подтвердили наличие гастропротекторного эффекта донора H_2S в данных условиях эксперимента.

H_2S при внутривентрикулярном введении также статистически достоверно уменьшал повреждающее влияние диклофенака на СОШ: численность и тяжесть изъязвлений уменьшались на 47,5 и 28,5 % соответственно, а язвенный индекс стал в 1,5 раза меньше по сравнению с монотерапией НПВС. 5-дневное внутривентрикулярное введение донора H_2S и диклофенака практически не меняли кислотность желудочного сока и моторику кишечника животных.

Таким образом, уровень насыщенности организма H_2S существенно модулирует степень гастроотоксичности диклофенака натрия: дефицит H_2S увеличивает повреждающее влияние исследуемого НПВС на желудок, тогда как избыток его, наоборот, уменьшает. Внутривентрикулярное введение донора гидроген сульфида в течение 5 дней вместе с диклофенаком натрия в условно терапевтических дозах (4 мг/кг и 8 мг/кг соответственно) практически не влияло на секреторную и моторно-эвакуаторную функции пищеварительного тракта крыс и вызвало достоверно меньше макроскопических изменений в СОШ по сравнению с монотерапией нестероидным антифлогистиком.

Ключевые слова: гастроотоксичность, диклофенак натрия, гидроген сульфид, пропаргилглицин, секреторно-моторная функция ЖКТ

N. I. Voloshchuk, I. V. Taran

Gastrotoxic effect of diclofenac sodium under deficiency and excess of hydrogen sulfide in experiment

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are effective symptomatic drugs to relieve pain, fever and inflammation. Their prolonged using is often accompanied by the development of adverse reactions, including gastropathy. Physiological messengers play important role in gastric cytoprotection. One of them is hydrogen sulfide (H_2S), which provides protective properties of the gastric mucosa. Decreasing of hydrogen sulfide level is one of the mechanisms of anti-inflammatory action of NSAIDs. Metabolic changes that occur at the same time involved in the pathogenesis of NSAID-gastropathy.

The aim of the study was to evaluate changes in the damaging effect of diclofenac sodium on the gastrointestinal tract in rats against the background of the introduction of donor hydrogen sulfide (NaHS) and its synthesis inhibitor (propargylglycine).

The study was carried out on male white nonlinear rats weighing 180–210 g. Excess and deficiency of H_2S in animals were created by intraperitoneal introduction of NaHS (1,5 mg/kg) and propargylglycine (50 mg/kg), respectively, for 5 days. H_2S content in the serum was determined by spectrophotometric method. Animals of group I served as control group, the rats in group II were administered diclofenac sodium (8 mg/kg) for 5 days into stomach. The NSAIDs were administered to the rats of III and IV groups on a background of excess and deficiency of hydrogen sulfide, respectively. Animals of the V and VI groups with excess and deficiency of H_2S served as an additional control. In separate experiments diclofenac sodium in the abovementioned mode was injected in 0.5 hours after intragastric administration of sodium H_2S (4 mg/kg). Test substances were administered in conventional therapeutic doses (1/20 of LD_{50}). The state of the gastric mucosa, changes in acid-forming function of the stomach and intestinal motor function were assessed. Statistical analysis of the results was performed by standard methods using biometrics application package Statistica 5.5.

H_2S deficiency in rats increased the gastrotoxicity of diclofenac sodium: plurality and severity of ulceration in rats of IV and V group were 70,8 and 30,8 % higher than in group II and III animals (53,5 and 23,1 %, respectively). Percentile and correlation analysis showed a clear connection between the degree of severity of the damaging effect of diclofenac on the gastric mucosa and the level of hydrogen sulfide in the serum and confirmed the presence of H_2S donor gastroprotective effect under these experimental conditions.

H_2S at intragastric administration also reduced the damaging effect of diclofenac on the gastric mucosa statistically significantly: multiplicity and severity of ulceration decreased in 47,5 and 28,5 %, respectively, and ulcer index became smaller in 1.5 times in comparison with NSAID monotherapy. However, 5-day intragastric administration of H_2S donor and diclofenac practically did not change the acidity of gastric secretion and intestine motor function of animals.

The level of saturation of the organism with H_2S significantly modulates the degree of gastrotoxicity of diclofenac sodium: deficiency of H_2S increases, while the excess of it, on the contrary, reduces the damaging effect of the studied NSAID on the stomach. Intragastric administration of hydrogen sulfide donor for 5 days with diclofenac sodium in conventionally therapeutic doses (4 mg/kg and 8 mg/kg, respectively) practically had no effect on the secretory and motor functions of the rat's digestive tract and caused significantly less macroscopic changes in the gastric mucosa compared to monotherapy with non-steroidal antiphlogistic.

Key words: gastrotoxicity, diclofenac sodium, hydrogen sulfide, propargylglycine, secretion and motorfunction of the gastrointestinal tract

Надійшла: 12.09.2014 р.

Контактна особа: Волощук Наталія Іванівна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Тел. +38 0 67 307 71 34. Електронна пошта: natkafarm@yandex.ru