

**ДІЯ H₂S-ВМІСНОГО НАПРОКСЕНУ НА СТАН СИСТЕМИ
NO-СИНТАЗА/АРГІНАЗА ЗА УМОВ СТРЕСУ В ТОНКІЙ КИШЦІ**

Досліджено вплив АТВ-346 (H₂S-вмісний напроксен) на стан системи NO-синтаза/аргіназа та процеси ліпопероксидації за умов стресу в тонкій кишці щурів. Блокування ЦОГ-1/ЦОГ-2 напроксом на тлі стресу знижувало активність iNOS та вміст ТБК-активних продуктів, введення АТВ-346 при стресі не викликало виражених змін активності iNOS та процесів ліпопероксидації порівняно з введенням напроксену.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: напроксен, гідроген сульфід, стрес, тонка кишка.

ВСТУП. Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) – похідні арилпропіонової кислоти (напроксен, ібупрофен, кетопрофен) – широко застосовують при різних патологічних станах (болю різного походження, запальних захворюваннях рухового апарату, ревматичних хворобах, гарячці). Однак використання НПЗП викликає побічну дію та небажані ефекти, серед яких значне місце займають розвиток ульцерогенних ушкоджень та кровотечі у слизовій оболонці шлунка і тонкій кишці [15].

Одним з напрямків зниження негативної дії НПЗП є створення на їх основі нових засобів шляхом включення до субстанції НПЗП нітроген оксиду (NO) або гідроген сульфіду (H₂S). До таких нових засобів належить напроксен, до якого доєднаний H₂S - АТВ-346 (4-(5-тіоксо-5H-[1,2]дитіол-3-іл)-фенилестер). У попередніх дослідженнях було показано, що H₂S володіє широким спектром біологічної дії: інгібує адгезію лейкоцитів до ендотелію судин, пригнічує синтез прозапальних цитокінів, має антиоксидантну дію та бере участь у механізмах цитопротекції [9, 10].

При впливі НПЗП та стресу змінюється активність системи NO-синтаза/аргіназа та знижується синтез H₂S. Між NO та H₂S існують тісні прямі та опосередковані взаємозв'язки на різних рівнях регуляції численних процесів (вазодилатації, антиоксидантних процесів тощо) [6]. Однак як впливає H₂S-вмісний напроксен на стан системи NO-синтаза/аргіназа та процеси ліпопероксидації на тлі стресу в тонкій кишці не вивчено. Метою роботи було визна-

чити особливості зміни активності системи NO-синтаза/аргіназа і процесів ліпопероксидації за умов впливу H₂S-вмісного напроксену та стресу в тонкій кишці щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконано на 68 білих щурах відповідно до міжнародних умов проведення експериментів з лабораторними тваринами. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію, при проведенні досліду тварин брали натщесерце, забезпечуючи безперешкодний доступ до води.

Тварин було поділено на 7 груп: 1-ша – контрольні тварини (n=8); 2-га – щури, в яких моделювали водно-імобілізаційний стрес (ВІС) шляхом імобілізації тварин у пластиковому контейнері, після чого останній занурювали вертикально у воду ((23±0,5) °С) до рівня мечоподібного відростка щура на 5 год [13] (n=10); 3-тя – тварини, яким вводили неселективний блокатор ЦОГ-1/ЦОГ-2 напроксен на тлі ВІС (n=10); 4-та – тварини, яким вводили АТВ (10 мг/кг) на тлі ВІС; 5-та – тварини, яким вводили адреналін у дозі 2 мг/кг внутрішньочеревно натщесерце [1] (n=10); 6-та – тварини, яким на тлі адреналініндукованого стресу (АІС) вводили напроксен (n=10); 7-ма – тварини, яким на тлі АІС вводили АТВ (n=10). Усі речовини вводили у дозі 10 мг/кг per os за 30 хв до моделювання ВІС.

У гомогенатах слизової оболонки тонкої кишки (СОТК) визначали активність NO-синтази [2], активність аргінази [4], вміст нітрит-аніона за допомогою реактиву Грісса [5], вміст ТБК-активних продуктів [3].

Результати оброблено методом варіаційної статистики з використанням програмного забезпечення ANOVA з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень свідчать про те, що ВІС викликав значну активацію iNOS у СOTК, яка зростала майже втричі, водночас відбувалось зниження активності cNOS (на 51 %, $p < 0,05$) та аргінази (на 31 %, $p < 0,05$); вміст ТБК-активних продуктів

збільшувався на 19 % ($p < 0,05$) (табл.). Вплив АІС також призводив до підвищення у СOTК активності iNOS майже у 3 рази ($p < 0,05$), тоді як активність cNOS достовірно не змінювалась, вміст нітрит-аніона збільшився на 35 % ($p < 0,05$), вміст ТБК-активних продуктів – на 26 % ($p < 0,05$). Тобто як ВІС, так і АІС спричиняли в СOTК підвищення активності iNOS, вмісту нітрит-аніона та ТБК-активних продуктів, активність аргінази при цьому знижувалась, також зменшувалась активність cNOS за умов ВІС.

Таблиця – Вплив напроксену та АТВ-346 на систему NO-синтаза/аргіназа і процеси ліпопероксидації на тлі стресу в тонкій кишці

| Серія досліджень | ТБК-активні продукти, мкмоль/г·тк | Нітрит-аніон, мкмоль/г | iNOS, нмоль/хв·г | cNOS, нмоль/хв·г | Аргіназа, мкмоль/хв·мг |
|------------------|-----------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------------|
| Контроль | 191±9,9 | 17,2±1,3 | 0,24±0,06 | 0,58±0,1 | 0,32±0,04 |
| ВІС | 237±6,8* | 20±0,75* | 0,63±0,14** | 0,28±0,14* | 0,22±0,02 |
| АІС | 237±10,4* | 23,3 ±0,8* | 0,63±0,12** | 0,46±0,07 | 0,27 ±0,07 |
| ВІС+Напр | 221±7,8# | 20±0,81 | 0,46±0,12# | 0,28±0,05 | 0,22±0,03 |
| АІС+Напр | 219,9±5,8# | 18,2±1,2 | 0,49±0,1 | 0,31±0,11 | 0,19±0,04 |
| ВІС+АТВ-346 | 217±7,23 | 19,1±1,57 | 0,43±0,07 | 0,27±0,09 | 0,23±0,03 |
| АІС+АТВ-346 | 222,6±7,7 | 18,8±1,7 | 0,38±0,17 | 0,35±0,06 | 0,29±0,08 |

Примітки:

1. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ порівняно з інтактними тваринами.
2. # – $p < 0,05$ порівняно з показниками ВІС та АІС.

Введення неселективного блокатора ЦОГ-1/ЦОГ-2 напроксену на тлі ВІС у СOTК викликало зниження активності iNOS на 38 % ($p < 0,05$), активність аргінази не змінювалась, активність cNOS мала тенденцію до зростання, вміст ТБК-активних продуктів зменшився ($p < 0,05$) порівняно з показниками при дії ВІС. Блокування рівня активності ЦОГ-1/ЦОГ-2 на тлі АІС знижувало активність iNOS на 22 % ($p < 0,05$), вміст нітрит-аніона – на 20 % ($p < 0,05$), вміст ТБК-активних продуктів – на 9 % ($p < 0,05$), активність аргінази мала тенденцію до зменшення порівняно з відповідними показниками при АІС. Таким чином, блокування рівня активності ЦОГ-1/ЦОГ-2 напроксеном як при ВІС, так і при АІС знижувало активність iNOS та вміст ТБК-активних продуктів, активність аргінази при цьому достовірно не змінювалась.

Одноразове введення АТВ-346 на тлі ВІС у СOTК знижувало активність iNOS на 32 % ($p < 0,05$), вміст ТБК-активних продуктів зменшився на 8 % ($p < 0,05$), вміст нітрит-аніона та активність аргінази достовірно не змінювались порівняно з показниками при дії ВІС, а також достовірно не відрізнялись від показників при дії напроксену на тлі ВІС. При введенні АТВ-346 на тлі АІС активність iNOS знизилась на 40 % ($p < 0,05$), вміст ТБК-активних продуктів змен-

шився на 8 % ($p < 0,05$), активність аргінази не змінювалась порівняно з показниками при АІС. Порівнюючи вплив АТВ-346 з напроксеном на тлі ВІС та АІС, виражених змін ми не виявили.

Показано, що як ВІС, так і АІС у СOTК призводили до підвищення активності iNOS та процесів ліпопероксидації, активність аргінази при цьому знижувалась. При стресі включаються як нервові, так і гуморальні механізми, що викликає порушення мікрогемодинаміки, посилення оксидативних процесів, зростання проникності епітеліального бар'єру [7, 8].

Блокування ЦОГ-1/ЦОГ-2 напроксеном на тлі ВІС та АІС у тонкій кишці призводило до зниження рівня активності iNOS у СOTК порівняно з ізольованим впливом ВІС та АІС. Це зумовлено тим, що між системами ЦОГ/ПГ і NOS/NO існують тісні взаємозв'язки: NO може безпосередньо стимулювати експресію ЦОГ та біосинтез ПГ [12]. З іншого боку, простагландини регулюють активність NOS. У зв'язку з цим, блокування активності ЦОГ призводило до зниження активності NOS (насамперед iNOS) та зменшувало продукцію NO [11].

Дія АТВ-346 на тлі як ВІС, так і АІС також викликала зменшення активності iNOS та вмісту ТБК-активних продуктів, активність аргінази достовірно не змінювалась, що свідчить про

домінуючу дію базової субстанції АТВ – на проксену.

Введення НПЗП знижує синтез простагландинів у тонкій кишці та може спричиняти розвиток ентеропатії, при цьому не завжди виникають деструктивні ушкодження та кровотечі, однак підвищується проникність епітеліального бар'єру тонкої кишки, зростає адгезія нейтрофілів до ендотеліоцитів кровоносних судин, внаслідок чого виникає ендотеліальна дисфункція, змінюються кількість та видовий склад мікрофлори [15]. Протекторну дію АТВ-346 за умов експериментального виразкоутворення в шлунку пов'язують із стимуляцією ангиогенезу [14]. У наших дослідженнях АТВ-346 не викликав вираженого впливу на активність системи NO-синтаза/аргіназа та процеси ліпоперокси-

дації на тлі стресу в тонкій кишці, що може бути пов'язано з його одноразовим введенням, низькою концентрацією у кишці та метаболізмом.

ВИСНОВКИ. 1. Як водно-імобілізаційний, так і адреналініндукований стрес викликали різке зростання активності iNOS та ТБК-активних продуктів у слизовій оболонці тонкої кишки щурів, активність аргінази при цьому знижувалась.

2. Блокування ЦОГ-1/ЦОГ-2 напроксеном на тлі ВІС та АІС знижувало активність iNOS та вміст ТБК-активних продуктів, введення H₂S-вмісного напроксену (АТВ-346) на тлі ВІС та АІС не викликало виражених змін активності iNOS та процесів ліпопероксидації порівняно з введенням напроксену.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белостоцкий Н. И. Язвобразование в слизистой оболочке желудка крыс под влиянием катехоламинов / Н. И. Белостоцкий // Патол. физиол. и эксперим. медицина. – 1988. – № 1. – С. 24–27.

2. Сумбаев В. В. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс / В. В. Сумбаев, И. М. Ясинская // Совр. пробл. токсикологии. – 2000. – № 3. – С. 3–7.

3. 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.

4. Geyer J. W. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates / J. W. Geyer, D. Dabich // Anal. Biochem. – 1971. – **39**, № 2. – P. 412–417.

5. Green L. C. Analysis of nitrate, nitrite and (1515) nitrate in biological fluids / L. C. Green, A. W. David // Anal. Biochem. – 1982. – **126**. – P. 131–138.

6. Kolluru G. K. A tale of two gases: NO and H₂S, foes or friends for life / G. K. Kolluru, X. Shen, Ch. G. Kevil // Redox. Biol. – 2013. – **1**, № 1. – P. 313–318.

7. Konturek P. C. Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options / P. C. Konturek, T. Brzozowski, S. J. Konturek // J. Physiol. Pharmacol. – 2011. – **62**, № 6. – P. 591–599.

8. Larauche M. Corticotropin releasing factor signaling in colon and ileum: regulation by stress and pathophysiological implications / M. Larauche,

C. Kiank, Y. Tache // J. Physiol. Pharmacol. – 2009. – **60**, № 7. – P. 33–46.

9. Lim Y. J. Recent Advances in NSAIDs-Induced Enteropathy Therapeutics: New Options, New Challenges / Y. J. Lim, H. J. Chun // Gastroenterol. Res. Pract. – 2013. – 761060.

10. Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (АТВ-346) / J. L. Wallace, G. Caliendo, V. Santagada [et al.] // Br. J. Pharmacol. – 2010. – **159**, № 6. – P. 1236–1246.

11. Mollace V. Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors / V. Mollace, C. Muscoli, E. Masini // Pharmacol. Res. – 2005. – **57**. – P. 217–252.

12. Potential role of NO in modulation of COX-2 expression and PGE₂ production in pancreatic beta-cells / J. J. Ling, Y. J. Sun, D. Y. Zhu [et al.] // Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). – 2005. – **37**, № 2. – P. 139–146.

13. Takagi K. Y. Studies on drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcers in rats / K. Y. Takagi, Y. Kayuya, K. Watanabe // Chem. Pharm. Bull. – 1964. – **12**. – P. 465–472.

14. Wallace J. L. Hydrogen sulfide: an endogenous mediator of resolution of inflammation and injury / J. L. Wallace, J. G. Ferraz, M. N. Muscara // Antioxid. Redox. Signal. – 2012. – **17**, № 1. – P. 58–67.

15. Wallace J. L. NSAID gastropathy and enteropathy: distinct pathogenesis likely necessitates distinct prevention strategies / J. L. Wallace // Br. J. Pharmacol. – 2012. – **165**, № 1. – P. 67–74.

И. И. Илькив, Н. Б. Панасюк, Л. П. Билецкая, А. Я. Скляров
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

ДЕЙСТВИЕ H₂S-СОДЕРЖАЩЕГО НАПРОКСЕНА НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ NO-СИНТАЗА/АРГИНАЗА В УСЛОВИЯХ СТРЕССА В ТОНКОЙ КИШКЕ

Резюме

Проведено исследование влияния ATV-346 (H₂S-содержащий напроксен) на состояние системы NO-синтаза/аргиназа и процессы липопероксидации в условиях стресса в тонкой кишке крыс. Блокировка ЦОГ-1/ЦОГ-2 напроксеном на фоне стресса снижало активность iNOS и содержание ТБК-активных продуктов, введение ATV-346 при стрессе не вызвало выраженных изменений активности iNOS и процессов липопероксидации по сравнению с введением напроксена.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: напроксен, водорода сульфид, стресс, тонкая кишка.

I. I. Ilkiv, N. B. Panasyuk, L. P. Biletska, O. Ya. Sklyarov
DANYLO HALYTSKY LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

EFFECTS OF H₂S-CONTAINING NAPROXEN ON STATE OF NO-SYNTHASE/ARGINASE UNDER CONDITIONS OF STRESS IN THE SMALL INTESTINE

Summary

The effect of ATV-346 (H₂S-containing naproxen) on the state of the system NO-synthase/arginase and lipid peroxidation processes under conditions of stress in the small intestine of rats. Blocking COX-1/COX-2 naproxen on the background stress reduces the activity of iNOS and content of TBA-active products, the introduction of ATV-346 under stress did not cause marked changes in iNOS activity and lipid peroxidation processes compared to naproxen introduction.

KEY WORDS: naproxen, hydrogen sulfide, stress, small intestine.

Отримано 04.07.14

Адреса для листування: І. І. Ільків, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.