Вплив інгібіторів циклооксигенази та ліпооксигенази на процеси ульцерогенезу та цитопротекції в слизовій оболонці шлунка щурів

*І.С. ФОМЕНКО, П.О. СКЛЯРОВ, Р.Б. ЛЕСИК
Львівський національний медичний університет
ім. Данила Галицького, Львів, Україна
E-mail: iryna.fomenko.lviv@gmail.com*

Одним із найпотужніших чинників ульцерогенезу в травній системі вважають неконтрольоване вживання нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) [8, 18]. НПЗП на сьогодні посідають чільне місце у лікарській практиці завдяки поєднанню їх знеболювальної, жарознижувальної

та протизапальної дії. Покази щодо застосування НПЗП різноманітні та включають запальні й дегенеративні захворювання опорно-рухової системи: ревматизм, ревматоїдний артрит, ювенільний хронічний подагричний артрит, анкілозуючий спондиліт, остеоартроз; больовий синдром: міалгія, невралгія, артралгія, радикуліт, біль голови та зубний біль, тендиніт; посттравматичний і постопераційний больовий синдром, що супроводжується запаленням; дисменорея, аднексит; інфекційно-запальні захворювання органів ЛОР системи: фарингіт, тонзиліт, отит. В окремих випадках показане позитивне вживання НПЗП. Розвиток виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки – найбільш вірогідне ускладнення при застосуванні НПЗП, оскільки розвиваються вони у 10–20 % пацієнтів, що вживають ці засоби [1]. Ульцерогенний вплив НПЗП пов'язаний з інгібуванням синтезу простагландинів (ПГ), що утворюються за участю циклооксигенази (ЦОГ) та реалізують численні фізіологічні ефекти у травній системі.

Окрім ЦОГ, важливе значення у розвитку запалення має ліпооксигеназа (ЛОГ) – ензим, відповідальний за синтез лейкотрієнів (ЛТ). Прозапальні властивості ЛТ та зростання їх синтезу при різних захворюваннях свідчать про те, що інгібітори ЛОГ мають перспективу в лікуванні низки алергічних та запальних станів [10]. Тож важливим напрямком у пошуку нових НПЗП є створення сполук що одночасно інгібують ЦОГ та ЛОГ. Іншим перспективним напрямком розробки НПЗП, позбавлених токсичного ефекту, є розробка аналогів неселективних інгібіторів ЦОГ, спроможних вивільняти H_2S . Найкраще описаним у доступній літературі представником H_2S -зв'язаних НПЗП є АТВ-346, що у попередніх дослідженнях на тваринах, володіючи протизапальними властивостями, не чинив виражених побічних ефектів [11, 12].

Враховуючи обидва найбільш перспективні напрямки розробки НПЗП, метою нашого дослідження було з'ясувати вплив сірковмісних інгібіторів ЦОГ/ЛОГ, сполук Les-5054 та Les-5055, що потенційно вивільняють H_2S у травному тракті, на показники NO-синтазної системи та процеси ліпопероксидації в слизовій оболонці шлунка (СОШ) щурів.

Матеріали й методи дослідження. Досліди проводили на 40 білих щурах масою 200–220 г, котрих було поділено на 4 групи: перша – контрольна група, яким вводили фізіологічний розчин; друга група – тварини, яким вводили діючу речовину інгібітора подвійної ЦОГ/ЛОГ дії дарбуфелону – 2-аміно-5-(3,5-дитертбутил-4-гідроксибензиліден)-тіазол-4-он (2A5DHT); тваринам третьої та четвертої груп вводили хімічно модифіковані похідні 2A5DHT, сполуки 5-(3,5-дитертбутил-4-гідроксибензиліден)-2-тіоксотіазолідин-4-он (Les-5054) та 3-(3,5-дитертбутил-4-гідроксифеніл)-2-меркаптоакрилову кислоту (Les-5055), відповідно. Сполуки 2A5DHT, Les-5054 та Les-5055 вводили одноразово в дозі 10 мг/кг, перорально.

Слизову оболонку шлунка (СОШ) за допомогою скальпеля відсепарували, гомогенізували в охолодженому 0,9 % розчині натрію хлориду у співвідношенні 1:5 при швидкості обертання гомогенізатора 3000 об./хв. Для осадження грубодисперсних залишків клітин гомогенати центрифугували при 1600 g ($t = 0...-4$ °C). У гомогенатах СОШ визначали активність NO-синтаз за накопиченням новосинтезованого L-цитруліну [5], концентрацію H_2S у гомогенатах СОШ визначали в реакції з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном у присутності $FeCl_3$, а в сироватці крові – в реакції з p-фенілендіаміном [24]. Інтенсивність процесів ліпопероксидації вивчали за вмістом ТБК-активних продуктів [6], активність мієлопероксидази на основі реакції з o-діанізидином [13]. Активність ферментів антиоксидантного захисту супероксиддисмутази (СОД) і каталази визначали методами Чеварі С. [7] та Корольюка [4], відповідно.

Статистичну обробку експериментальних результатів проводили з використанням прикладної програми ANOVA «Statistica». Статистично достовірними вважали розбіжності при $p \leq 0,05$.

Всі дослідження були виконані згідно з правилами, передбаченими Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Результати дослідження та їх обговорення. Жоден з уведених інгібіторів ЦОГ/ЛОГ не призводив до розвитку структурно-геморагічних змін СОШ (рис. 1), на відміну від традиційних НПЗП [2, 17].

Рис. 1. Макроскопічний стан СОШ за умов впливу ЦОГ/ЛОГ інгібіторів:
1 – контрольні тварини; 2 – 2A5DHT; 3 – Les-5054; 4 – Les-5055

Одним із суттєвих недоліків наявних нині НПЗП є їх інгібувальний вплив на ферменти синтезу H_2S [16]. У нашому дослідженні за умов використання сполук 2A5DHT та Les-5055 концентрація H_2S у СОШ статистично достовірно знижувалась (відповідно на 15 % та 10 %, $p \leq 0,05$) (рис. 2, а). Отже, очікування щодо вивільнення H_2S з Les-5055 не були виправданими. Подібні тенденції за аналогічних умов спостерігали також у сироватці крові (рис. 2, б). Натомість при введенні сполуки Les-5054 рівень H_2S у сироватці крові залишався на рівні показників контрольної групи, а в СОШ навіть виявляв тенденцію до зростання на відміну від отриманих результатів при дослідженні інших інгібіторів подвійної дії.

Рис. 2. Концентрація H_2S в СОШ (а) та сироватці крові (б) за умов впливу ЦОГ/ЛОГ інгібіторів ($M \pm m$, $n = 8$):

1 – контрольні тварини; 2 – 2A5DHT; 3 – Les-5054; 4 – Les-5055;

* $p \leq 0,05$ порівняно з показниками у тварин контрольної групи

Відомо, що між синтезом H_2S та NO існують тісні метаболічні зв'язки [21]. При використанні сполук подвійного інгібування ми відмітили зростання його концентрації суми нітрит-аніону і нітрат-аніону на 37 % та 36 % ($p \leq 0,05$) при застосуванні сполук 2A5DHT та Les-5055 (див. таблицю 1). Використання сірковмісної сполуки Les-5054, що вивільняє H_2S меншою мірою впливало на рівень досліджуваного показника. Зміни концентрації NO_2^- та NO_3^- передусім є наслідком зміни активності NOS. Так, активність iNOS зростала при використанні 2A5DHT в 6,5 разу ($p \leq 0,01$). Застосуван-

ня сполуки Les-5054 підвищувало активність iNOS лише удвічі, тоді як введення сполуки Les-5055 зумовлювало її зростання в 4,4 разу ($p \leq 0,05$). При цьому суттєвих змін активності cNOS у СОШ при застосуванні досліджуваних інгібіторів ЦОГ/ЛОГ не спостерігали.

Отримані дані стосовно зміни активності iNOS, імовірно, пов'язані з інгібуванням ЦОГ, оскільки узгоджуються з попередніми результатами стосовно впливу інгібіторів ЦОГ [23] і доводять існування тісного взаємозв'язку між системами ЦОГ/ПГ та NOS/NO. Натомість інгібування ЛОГ шляху обміну арахідонової кислоти не чинило суттєвого самостійного впливу на активність NOS у СОШ.

Концентрація стабільних метаболітів NO та активність ізоформ NOS у СОШ за умов впливу інгібіторів ЦОГ/ЛОГ ($M \pm m$)

Групи тварин	Концентрація NO, мкмоль/г	Активність iNOS, нмольНАДФН ₂ /хв·г	Активність cNOS, нмольНАДФН ₂ /хв·г
Інтактні тварини <i>n</i> = 8	23,9 ± 4,1	0,15 ± 0,05	0,40 ± 0,09
2A5DHT <i>n</i> = 8	32,6 ± 4,4*	0,98 ± 0,06**	0,38 ± 0,02
Les-5054 <i>n</i> = 8	29,1 ± 3,6	0,34 ± 0,12**	0,42 ± 0,09
Les-5055 <i>n</i> = 8	31,2 ± 4,5*	0,66 ± 0,12**	0,39 ± 0,11

* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ порівняно з показниками у тварин контрольної групи

На наступному етапі досліджували вплив інгібіторів подвійної ЦОГ/ЛОГ дії на активність мієлопероксидази (рис. 3, а). З'ясувалося, що сполука 2A5DHT виявляла тенденцію до підвищення її активності, проте таке зростання не було статистично достовірним. Речовина Les-5055 не впливала на активність мієлопероксидази, тоді як сполука Les-5054 призводила до її зменшення на 28 % порівняно з показниками у тварин контрольної групи ($p \leq 0,01$). Рівень ТБК-активних продуктів у СОШ тварин, що отримували досліджувані інгібітори ЦОГ/ЛОГ практично не змінювався і залишався у межах нормальних величин (рис. 3, б).

Рис. 3. Активність мієлопероксидази (а) та концентрація ТБК-активних продуктів (б) у гомогенатах СОШ за умов впливу ЦОГ/ЛОГ інгібіторів ($M \pm m$, $n = 8$):
1 – контрольні тварини; 2 –2A5DHT; 3 – Les-5054; 4 – Les-5055;
** $p \leq 0,01$ порівняно з показниками у тварин контрольної групи

Незважаючи на те, що ні інгібітор подвійної ЦОГ/ЛОГ дії, структурний аналог дарбуфелону – речовина 2A5DHT, ні його сірковмісні похідні спо-

луки Les-5054 та Les-5055 не призводили до розвитку деструктивних змін у СОШ та не відбувалося активування процесів ліпопероксидації, активність ферментів антиоксидантного захисту СОД та каталази зростала (рис. 4).

Рис. 4. Активність СОД (а) та каталази (б) у гомогенатах СОШ за умов впливу ЦОГ/ЛОГ інгібіторів ($M \pm m$, $n = 8$):

1 – контрольні тварини; 2 – 2A5DHT; 3 – Les-5054; 4 – Les-5055;

* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ порівняно з показниками у тварин контрольної групи

Узагальнюючи проведені нами дослідження, слід зазначити, що одним із важелів впливу інгібіторів ЦОГ на процеси ульцерогенезу в травній системі є їх здатність інгібувати експресію та активність ключових ферментів, відповідальних за синтез H_2S (цистатіонін-β-синтетази та цистатіонін-γ-ліази) [16]. Так, використання НПЗП призводить до суттєвого зниження концентрації H_2S та втрати його фізіологічних властивостей. Відомо, що у фізіологічних концентраціях H_2S володіє яскраво вираженою протизапальною активністю, відіграє важливу роль у регуляції вазодилатації, що має значення не лише у захисних механізмах при запаленні, але й у регенерації ушкоджених тканин, знижує продукцію прозапальних цитокінів, хемокинів і ферментів, що індукують апоптоз нейтрофілів, володіє антиоксидантною дією [15]. Таким чином, зниження концентрації H_2S внаслідок інгібування ЦОГ є одним із чинників ульцерогенезу.

Використання інгібітора ЦОГ/ЛОГ, сполуки 2A5DHT подібно, як НПЗП, знижувало концентрацію H_2S , що свідчить про домінуючу роль циклооксигеназного та мінорну – ліпооксигеназного у регуляції активності H_2S -продукуючих ензимів. Натомість, при введенні сполуки Les-5054 рівень H_2S залишався на рівні показників контрольної групи, що свідчить про те, що на тлі зниження синтезу H_2S внаслідок інгібування ЦОГ, вивільнення цього газового медіатора забезпечувало сталість його концентрації.

Попередніми дослідженнями показано, що інгібування ЦОГ чинить вплив на експресію та активність NOS і, як наслідок, впливає на концентрацію NO [22]. Окрім цього, показано значне зростання активності iNOS в СОШ при введенні НПЗП індометацину та напроксену. Аналогічно і в групах тварин, яким вводили ЦОГ/ЛОГ інгібітори, активність цієї ізоформи NOS зростала. З іншого боку, відомо, що НПЗП зумовлюють зміщення обміну арахідонової кислоти в бік утворення вазоконстрикторних ЛТ: ЛТС₄, ЛТD₈ [14]. За таких умов NO може здійснювати цитопротективний ефект, володіючи судиннорозширюючою дією та інгібуючи адгезію лейкоцитів [20]. Вазоконстрикція в шлунку за умов дефіциту ПГ служить додатковим чинником агресії, що опосередковується низкою біохімічних подій, серед яких зміна активності NO-синтаз та оксидативний стрес. Тому, ймовірно, одночас-

не інгібування ЦОГ/ЛОГ сполуками 2A5DHT, Les-5054 та Les-5055, зумовлюючи інгібування вазоконстрикторних ЛТ, не призводило до формування виразкових ушкоджень СОШ. Окрім цього довели, що сполука Les-5054, яка найефективніше вивільняє H_2S , чинить найменш виражений ефект на активність iNOS, ферменту, який часто служить маркером розвитку запалення або деструкції. В цілому, враховуючи, що суттєвої різниці між змінами активності NOS при інгібуванні ЦОГ та сумісному ЦОГ/ЛОГ блокуванні, можна вважати, що пов'язані вони саме з інгібуванням ЦОГ, тоді як інгібування ЛОГ шляху обміну арахідонової кислоти суттєвого впливу на активність NOS не чинить.

Активування процесів ліпопероксидації – одна із ключових ланок ульцерогенезу при застосуванні НПЗП [9, 19]. Натомість, досліджувані нами ЦОГ/ЛОГ інгібітори не зумовлювали зростання концентрації ТБК-активних продуктів, що можна пояснити, з одного боку, самостійною антиоксидантною активністю, яка була описана для більшості тiazolidinonів [3], з іншого боку, інгібуванням ЛОГ, ферменту, залученого до активації оксидативних процесів у СОШ. Водночас при інгібуванні ЦОГ/ЛОГ відмічали зростання активності ферментів антиоксидантного захисту СОД та каталази, що суттєво відрізняє їх вплив від впливу НПЗП, які знижують їх активність внаслідок виснаження ферментативної системи захисту.

Висновки. Отримані результати стосовно впливу інгібіторів подвійної ЦОГ/ЛОГ інгібувальної дії на H_2S та NO-залежні механізми ульцерогенезу та цитопротекції дозволили констатувати, що сполуки 2A5DHT, Les-5054 та Les-5055 володіють зниженою гастротоксичністю порівняно з впливом традиційних НПЗП. З усіх досліджуваних засобів тільки сполука Les-5054 вивільняла H_2S . Подвійне інгібування ЦОГ та ЛОГ супроводжувалось активуванням iNOS, більш вираженим при використанні сполук 2A5DHT та Les-5055, що пов'язано з їх інгібувальним впливом на ЦОГ. Інгібітори подвійної ЦОГ/ЛОГ дії не зумовлювали активування процесів ліпопероксидації та підвищували активність ферментів антиоксидантного захисту. При цьому було зафіксовано зниження активності мієлопероксидази при використанні Les-5054, що може бути пов'язане з інгібувальним впливом H_2S на процеси міграції нейтрофілів, а отже, і його активною протизапальною дією.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бичков МА. Чинники ризику розвитку гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби у пацієнтів, що тривало вживають нестероїдні протизапальні препарати. Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер.: Медицина. 2011;40:50–3 (Bychkov MA. The factors of risk of gastroesophageal reflux disease in patients with long-lasting taking of the non-steroidal anti-inflammatory drugs. Scientific courier of Uzhgorod University. Ser.: Medicine. 2011;40:50–3).
2. Денисенко НВ, Фоменко ІС, Федевич ЮМ, Склярів ОЯ. H_2S -Зв'язаний нестероїдний протизапальний препарат АТВ-346 володіє зниженою гастротоксичністю порівняно з впливом його структурного аналога напроксену. Медична та клінічна хімія. 2014;16(4):26–9 (Denysenko NV, Fomenko IS, Fedevych YuM, Sklyarov OYa. H_2S -releasing non-steroidal anti-inflammatory drug ATV-346 has lower gastrototoxicity compared with structural analogue naproxen. Medical and clinical chemistry. 2014;16(4):26–9).
3. Зіменковський БС, Лесук РБ. 4-Тiazolidinoni. Хімія, фізіологічна дія, перспективи. Вінниця: Нова книга; 2004.106. (Zimenkovskyy BS, Lesyk RB. 4-thiazolidinones. Chemistry, physiological action, perspectives. Vinnytsya: New book; 2004.106).
4. Королюк МА, Іванова ЛІ, Майорова ІГ, Токарев ВЕ. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело. 1988;(1):16–9 (Koroliuk MA, Ivanova LI, Maiorova IG, Tokarev VE. A method of determining catalase activity. Lab. Delo. 1988;(1):16–9).
5. Раваева МЮ, Чуян ЕН. Изменение активности системы синтеза оксида азота под действием низкоинтенсивного миллиметрового излучения. Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. 2011;63(4):201–10 (Ravaeva MY, Chuyan EN. Change of activity system of synthesis nitrogen oxide under action of low-power millimeter waves. Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. 2011;63(4).201–10).
6. Тимурбулатов МА, Селезнев ЕИ. Метод повышения свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение. Лабораторное дело. 1981(4):209–11 (Timirbulatov RA, Seleznev EI. Method for increasing the intensity of free radical oxidation of lipid-containing components of the blood and its diagnostic significance Lab. Delo. 1981;(4):209–11).
7. Чевари С, Андял Т, Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте. Лаб. дело. 1991;(10):9–13 (Chevari S, Andial T, Shtrenger Ia. Determination of antioxidant parameters

of blood and their diagnostical significance. *Lab. Delo*.1991;(10):9–13). 8. Badri W, Miladi K, Nazari QA, Greige-Gerges H, Fessi H, Elaissari A. Encapsulation of NSAIDs for inflammation management: Overview, progress, challenges and prospects. *Int J Pharm*. 2016;515(1-2):757–73. 9. Basivireddy J, Jacob M, Balasubramanian KA. Indomethacin induces free radical-mediated changes in renal brush border membranes. *Arch Toxicol*. 2005;79(8):441–50. 10. Bertolini A, Otani A, Sandrini M. Selective COX-2 inhibitors and dual acting anti-inflammatory drugs: critical remarks. *Curr Med Chem*. 2002;9(10):1033–43. 11. Blackler RW, Motta JP, Manko A, Workentine M, Bercik P, Surette MG et al. Hydrogen sulphide protects against NSAID-enteropathy through modulation of bile and the microbiota. *Br J Pharmacol*. 2015;172(4):992–1004. 12. Blackler RW, Gemici B, Manko A, Wallace JL. NSAID-gastroenteropathy: new aspects of pathogenesis and prevention. *Curr. Opin. Pharmacol*. 2014;11:11–6. 13. Bradley PP, Christensen RD, Rothstein G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. *Blood*. 1982;60:618–22. 14. Brzozowski T, Konturek PC, Pajdo R, Ptak-Belowska A, Kwiecien S, Pawlik M et al. Physiological mediators in nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)-induced impairment of gastric mucosal defense and adaptation. Focus on nitric oxide and lipoxins. *J Physiol Pharmacol*. 2008;2:89–102. 15. Chan MV, Wallace JL. Hydrogen sulfide-based therapeutics and gastrointestinal diseases: translating physiology to treatments. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013;305:G467–73. 16. Fiorucci S, Antonelli E, Distrutti E, Rizzo G, Mencarelli A, Orlandi S et al. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. *Gastroenterology*. 2005;129(4):1210–24. 17. Fomenko I, Sklyarov A, Bondarchuk T, Biletska L, Panasyuk N, Wallace JL. Effects of conventional and hydrogen sulfide-releasing non-steroidal anti-inflammatory drugs in rats with stress-induced and epinephrine-induced gastric damage. *Stress*. 2014;17(6):528–37. 18. Goldstein JL, Cryer B. Gastrointestinal injury associated with NSAID use: a case study and review of risk factors and preventative strategies. *Drug Healthc Patient Saf*. 2015;7:31–41. 19. Hickey EJ, Raje RR, Reid VE, Gross SM, Ray SD. Diclofenac induced in vivo nephrotoxicity may involve oxidative stress-mediated massive genomic DNA fragmentation and apoptotic cell death. *Free Radic Biol Med*. 2001;31(2):139–52. 20. Lanas A. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. *Arthritis Research & Therapy*. 2008;10(2):4–12. 21. Magierowski M, Magierowska K, Kwiecien S, Brzozowski T. Gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastrointestinal integrity, protection and ulcer healing. *Molecules*. 2015;20(5):9099–123. 22. Mollace V, Muscoli C, Masini E, Cuzzocrea S, Salvemini D. Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors. *Pharmacol Rev*. 2005;57(2):217–52. 23. Nasadyuk C, Sklyarov AY. Thymohexin exhibits cytoprotective effect in experimental gastric lesions in rats both through the inhibition of inducible nitric oxide synthase and reduction of oxidative mucosal damage. *Regul Pept*. 2013; 180:50–57. 24. Olkhovskiy OS, Zaichko N. Influence propargyl glycine and sodium content of hydrogen and H₂S-indices of antioxidant system in the myocardium of rats of different ages. *Med Chem*. 2013;15(4):10–15.

Стаття надійшла до редколегії 23.05 2017

RESEARCH ARTICLE

Action of Cyclooxygenase and Lipoxygenase Inhibitors on Processes on Ulcerogenesis and Cytoprotection in gastric Mucosa of Rats

I. FOMENKO, P. SKLYAROV, R. LESYK

Danylo Halytskyi Lviv national medical university, Lviv, Ukraine

E-mail: iryina.fomenko.lviv@gmail.com

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) that inhibit cyclooxygenase (COX) – are the most commonly prescribed medications in the treatment of inflammatory states. However their main side effect is associated with the development of peptic ulcers. Lipoxygenase (LOX) pathway also plays an important role in inflammation. Compounds that combine COX and LOX inhibition are potential new drugs to treat the inflammation. It was supposed, that combined inhibition avoids some of the disadvantages of conventional COX-inhibitors in gastro-intestinal system. Another potential approach in the development of safe anti-inflammatory drugs is the creation of hydrogen sulphide (H₂S) – releasing analogues of conventional NSAIDs. Beneficial effect in this sphere may be demonstrated by novel compounds, 4-thiazolidinone-based derivatives possessing a dual COX/LOX inhibitory action and capable to release H₂S. Thus, the purpose of this study is to evaluate the action of a novel 4-thiazolidinone derivative, possessing dual COX/LOX inhibitory action on parameters of NO-synthase system and oxidative stress in gastric mucosa of rats. Rats were divided into 4 groups: 1 – control, 2 – 2A5DHT, 3 – Les-5054, 4 – Les-5055. Dual COX/LOX derivatives (2A5DHT, Les-5054 and Les-5055) were introduced in a single dose 10 mg/kg. In gastric mucosa the following parameters were determined: alter-

ations in malonic dialdehyde and H_2S concentrations, activities of myeloperoxidase, superoxide dismutase, catalase, inducible and constitutive NO-synthases (iNOS and cNOS).

Non of studied 4-thiazolidinone-based derivatives caused formation of gastric lesions, proving decreased gastrototoxicity of dual COX/LOX inhibitors as compared to conventional NSAIDs. However iNOS activity significantly increased in groups treated by 2A5DHT and Les-5055 (by 6,5 and 2-fold correspondently, $p \leq 0,01$) indicating pre-inflammatory condition. As a result of the rise in iNOS activity, NO concentration increased in these groups. It was shown that Les-5054 releases H_2S in gastro-intestinal system. In group of Les-5054 treated rats parameters of NO-synthase system and H_2S concentration were similar to those in the control group. Dual COX/LOX inhibitor 2A5DHT increased an activity of myeloperoxidase as opposite to Les-5054. It is well known that use of NSAIDs is accompanied by the increase of lipoperoxidation processes and the formation of oxidative stress. In our study all used 4-thiazolidinone-based derivatives didn't influence malonic dialdehyde concentration, however activity of main antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase increased. It can be explained on one hand by antioxidant properties of studied compounds (2A5DHT, Les-5054 and Les-5054) on the other hand by the inhibition of LOX resulted by reduction of leucotriens production.

Obtained results in this research allow us to conclude, that H_2S released from Les-5054 played the crucial role in the regulation of iNOS and myeloperoxidase activities. Compounds 2A5DHT, Les-5054 and Les-5055 didn't change the intensity of lipid peroxidation in gastric mucosa however increased the activity of enzymes of antioxidant protective system (superoxide dismutase and catalase). It proved beneficial effects of dual COX/LOX inhibitors as compared to traditional NSAIDs.

Key words: hydrogen sulfide, nitric oxide, gastric mucosa, cyclooxygenase, lipoxygenase.

УДК 616.379–008.64–06–02:577.152.12

Нефропротекторний ефект нікотинамиду при експериментальному цукровому діабеті

Л.В. ЯНИЦЬКА¹, Т.М. ТИХОНЕНКО², І.Б. ПРИВРОЦЬКА³, Т.М. КУЧМЕРОВСЬКА²

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

²Інститут біохімії імені О.В. Палладіна НАН України, Київ, Україна

³ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет

ім. І.Я. Горбачевського», Тернопіль, Україна

E-mail: tkuchmerovska@gmail.com

Цукровий діабет (ЦД) – захворювання, яке супроводжується численними хронічними ускладненнями, серед яких найбільш поширеними є серцево-судинні, ретинопатія, нейропатія, нефропатія та ін. [3]. Діабетична нефропатія є тяжким ускладненням ЦД, яке призводить до порушень функцій нирок, що посилює розвиток інших ускладнень діабету [15]. Серед різних екзо- та ендогенних чинників, не тільки гіперглікемія, але й мікроvasкулярні та макроvasкулярні порушення можуть призводити до розвитку діабетичної нефропатії [11, 14]. За гіперглікемії зміни у судинах досить часто супроводжуються ураженнями ниркових клубочків навіть на рівні клітин.

Так, за умов порушення функціонування нирок знижується їх клубочкова фільтрація, що призводить до розвитку мікроальбумінурії. Наявність мікроальбумінурії є найважливішим клінічним маркером для виявлення вже на ранніх етапах розвитку нефропатії. Серед патогенетичних механізмів, які призводять до розвитку цього ускладнення ЦД, одним із ключових є окислювальний та нітрозативний стрес, що супроводжується збільшенням концентрації активних форм Кисню (АФК) та активних форм Нітрогену (АФН). Однак у виникненні порушень функціонування нирок за розвитку діабетичної