

УДК 612.315/.32:-018.7/612.014:546.221

Назар БУЛА, Дзвенислава ХИРІВСЬКА, Олена ГАВРИЛЮК<sup>1</sup>, Оксана ЗАЯЧКІВСЬКА

## **H<sub>2</sub>S-ПОХІДНІ НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ ЯК НОВІ МОДУЛЯТОРИ ЦІЛІСНОСТІ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ СТРАВОХОДУ ТА ШЛУНКА**

*Кафедри нормальної фізіології, <sup>1</sup>патанатомії та судової медицини  
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,  
Львів, Україна, ozayachkivska@gmail.com*

**Вступ.** Відомо про цитотоксичні ефекти нестероїдних протизапальних препаратів (НСПЗП) у травній системі (ТС), які призводять до появи деструктивних ерозивно-виразкових і запальних пошкоджень, порушень проліферації епітеліального бар'єра, дисбіозу та моторних розладів. Застосування інгібіторів протонної помпи та H<sub>2</sub>-блокаторів для запобігання побічної дії НСПЗП, щоб уникнути ерозивно-виразкових ускладнень у ТС, сприяє гіпергастринемії, порушенню ентеросалівавторної рециркуляції нітритів та інших природних клітинних захисних механізмів, що сприяє онкогенезу. Нещодавно ми виявили, що у підвищенні резистентності слизової оболонки стравоходу (СОС) особлива роль належить ендogenousму газотрансмітеру сірководню (Гідроген сульфід, H<sub>2</sub>S), який легко дифундує через мембрани у клітини та змінює їхні функції через плейотропні механізми, що контролюють лейкоцитарно-ендотеліальну адгезію, запальні реакції, апоптоз, а також репарацію за рахунок зміни експресії циклооксигенази II. В останні роки було доведено важливість та обґрунтовано раціональність терапевтичного потенціалу НСПЗС для онкозахворювань ТС, тому актуальним є розробка новітніх безпечних НСПЗС без побічної цитолітичної дії.

**Мета.** Порівняти вплив H<sub>2</sub>S-споріднених НСПЗП – АТВ-346 (у дозі 14,5 мг/кг) та АТВ-340 (у дозі 17,5 мг/кг), напроксену та аспірину (у дозах 30 мг/кг та 10 мг/кг, відповідно) на цілісність епітеліального бар'єра стравоходу та шлунка.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведено на білих нелінійних щурів, яким упродовж 28 днів вводили препарати згідно дозволу університетського комітету з біоетики. На 29 день експерименту усім тваринам індукували гострий стрес (Takagi, 1964). Для виведення тварин з експерименту застосовували кентаміновий наркоз. Ступінь пошкодження проксимального відділу оцінювали за критеріями мікроскопічного езофагіту й гастриту згідно міжнародних гістологічних критеріїв.

**Результати.** Отримані дані свідчать, що у разі застосування АТВ-346 та АТВ-340 ознаки ураження слизової проксимального відділу менше виражені порівняно з дією напроксену та аспірину, що характеризувались альтерацією, підслизовим набряком,

відшаруванням і злуццям епітелію у люменальний просвіт та крововиливами у стромі.

**Висновки.** Дія  $H_2S$  виявляє ефективний цитопротекторний вплив на слизовий бар'єр стравоходу й шлунка, а споріднені з ним НСПЗП є перспективними для тривалого застосування з огляду на відсутність цитолітичної дії.

**Ключові слова:** цитопротекція, Гідроген сульфід, запалення, стравохід, шлунок.

Сьогодні ушкодження травної системи (ТС) унаслідок медикаментозних впливів або як побічна дія базисної терапії є найпоширенішою проблемою у світі. Такі порушення, які виникають у різних органах або залозах ТС, зумовлюють комплексні та взаємопов'язані зміни у міжклітинних і молекулярних сигнальних мережах, проте для них характерне тривале «маскування» хвороби, що сприяє неадекватній діагностичній та лікувальній тактиці. З кожним роком в Україні та світі збільшується поширеність медикаментозних езофагітів і гастритів, які за даними літератури здатні викликати понад 70 фармакологічних препаратів, у тім числі антибіотики, бісфосфонати, нестероїдні протизапальні (НПЗП), антигіпертензивні та пероральні цукрознижувальні ліки тощо [3, 6, 7, 16, 19]. Хоча НПЗП вважають найефективнішими анальгетиками та протизапальними засобами, водночас вони можуть виявляти потужну цитолітичну дію на органи травної системи в осіб, які мають змінений патерн метаболізму арахідонової кислоти [1, 10]. Також застосування інгібіторів протонної помпи (ІПП) або  $H_2$ -блокаторів для попередження НПЗП-індукованих уражень епітеліального бар'єра викликає протилежний ефект: при поєднанні цих препаратів посилюється пошкодження слизової оболонки стравоходу (СОС) та шлунка (СОШ), порушується функціонування сфінктерного апарата та моторної активності у ТС [5, 12, 20], ентеро-саліваторної рециркуляції нітритів, розвивається гіпергастринемія, що створюють умови для онкогенезу [8, 22].

Останні 10 років експериментальні та клінічні дослідження виявили, що хронічний рецидивуючий характер неерозивних пошкоджень СОС та поява млявого запалення (в англ.: low grade inflammation) відіграє ключову роль у трансформації езофагіту в стравохід Барретта [12, 13, 23], синдрому подразненої кишки в коліт, а також виявили ефективність застосування НСПЗП для запобігання ризиків розвитку аденокарциноми стравоходу та колоректального раку [14, 21], проте їх побічна цитолітична дія обмежує впровадження такого нового способу профілактики [4]. Тому пошук безпечних сполук таргетної дії щодо профілактики малігнізації клітин є актуальним завданням експериментальної гастроентерології. Привертає увагу розробка та впровадження новаторських засобів, які відомі як «smart drugs» (з англ.: «мудрі ліки»), володіють, окрім таргетної дії, активністю, що індукує фізіологічні захисні реакції або обмежує побічний цитотоксичний вплив.

Важливу роль у індукції запалення мають природні газотрансміттери Нітроген могооксид (NO) і Гідроген сульфід (H<sub>2</sub>S), їхні каталітичні біорегулятори, тому вивчення функціонального значення та взаємодії NO-H<sub>2</sub>S проводять дуже широко й інтенсивно, оскільки вони є ключовими у контролі проникливості судин і беруть участь у формуванні так званого гемодилуційного слизового бар'єра органів ТС [11]. З даних літератури відомо, що завдяки вазопротекторним ефектам NO і H<sub>2</sub>S можна запобігти побічній дії НСПЗП та інших поширених лікувальних препаратів, що викликають ерозивно-виразкові пошкодження епітеліального бар'єра, про що свідчать результати застосування NO- і H<sub>2</sub>S-збагачених засобів (наприклад, NO-аспірин і S-диклофенак чи АТВ 337) [9]. Оскільки засоби збагачені NO не отримали широкого поширення у клінічній практиці через їх побічну дію на серцево-судинну систему, тому дослідження впливу H<sub>2</sub>S – похідних мають широку перспективу для гастроентерології [25]. Нещодавно ми виявили, що біосинтез H<sub>2</sub>S значною мірою сприяє регулюванню цитопротективних і запальних процесів слизової оболонки стравоходу, зменшуючи ступінь прояву запалення та сприяючи наближенню до контрольних значень морфометричних та імунологічних показників секреції цитокінів, а також те, що зниження продукції цього медіатора призводить до загострення езофагіту [8, 15, 26].

**Мета** – порівняти вплив H<sub>2</sub>S-збагачених похідних НСПЗП (H<sub>2</sub>S-НСПЗП) АТВ-346 (H<sub>2</sub>S-напроксен) та АТВ-340 (H<sub>2</sub>S-аспірин) відповідно до дії напроксену й аспірину на цілісність епітеліального бар'єра стравоходу та шлунка. Ми припустили, що різке зниження синтезу H<sub>2</sub>S за допомогою інгібування цистатіонін γ-ліази (CSE) або цистатіонін β-синтази (CBS), головних ензимів біосинтезу H<sub>2</sub>S, може посилити НПЗП-індуковані пошкодження в СОС та СОШ, тому вважали, що треба використати також моделювання пригнічення ендogenousного синтезу H<sub>2</sub>S, застосовуючи блокаду активності CSE та CBS.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Всі експерименти проводили на щурах вагою 180-220 г (n=98) відповідно до норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовують для експериментальних та інших наукових цілей (1986), а також дозволу Комітету з біоетики Львівського національного медичного університету (ЛНМУ), протокол № 5 від 17. 05. 2014. Щурів утримували у стандартних умовах віварію ЛНМУ з вільним доступом до води, для виведення тварин з експерименту застосували анестезію (внутрішньом'язові ін'єкції кетаміну, 60 мг/кг<sup>-1</sup> (Біовет, Україна). В кожній групі було по 6-7 щурів.

Методологія дослідження охоплювала експериментальне моделювання НСПЗП-індуковані пошкодження за допомогою введення «класичних» напроксену (в-во «Борщагівський завод», Київ, Україна), у дозі 30 мг / кг, аспірину (в-во «Борщагівський завод», Київ, Україна), у дозі 10 мг/кг, та H<sub>2</sub>S-напроксену (АТВ-346), у дозі 14,5 мг/кг, та H<sub>2</sub>S-аспірину (АТВ-340) у дозі 17,5 мг/кг, *per os* щодня протягом 28 днів. На 29 день експерименту всім тваринам індукували водно-іммобілізаційний стрес (Takagi, 1964) [24].

Для дослідження ролі H<sub>2</sub>S в модуляції цитопротекції СОС та СОШ тваринам *per or* вводили інгібітор CSE (пропаргілгліцин, L-propargylglycine; PAG; 25 мг/ кг), інгібітор CBS (карбоксиметил-гідроксиламін геміхлорид натрій сульфід, O-carboxymethylhydroxylamine; CHN, 20 мг / кг ), як контроль щурі однієї групи отримували перорально плацебо (1,0 мл 0,9% NaCl). Дозозалежний ефект усіх препаратів H<sub>2</sub>S-НСПЗП і модуляторів біосинтезу H<sub>2</sub>S (в-во «Antibe Therapeutics Inc», Canada) апробовано у 2006-2013 рр. в лабораторних умовах J.L. Wallace, головним науковим керівником Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University, «Antibe Therapeutics Inc, Toronto, Ontario» [25].

Після виведення тварин з експериментів взяли зразки для гістологічного аналізу з верхніх, середніх і нижніх відділів СОС, а також зі стравохідно-шлункового переходу, фундального та пілоричного відділу шлунка. Зразок крові брали з черевної вени і поміщали в ЕДТА-пробірки, піддавали центрифугуванню, відбирали плазму для майбутнього визначення рівнів прозапальних медіаторів.

Стравохід і шлунок тварин видаляли, розрізаючи в повздовжньому напрямі від пілоричного з'єднання до глотки. Поверхню слизової оболонки обережно промивали фізіологічним розчином. Градацію макроскопічних змін стравоходу проводили відповідно до рекомендацій міжнародної наукової номенклатурної групи Vevey до Лос-Анджелеської класифікаційної системи: N – нормальна слизова, відсутність видимих уражень слизової стравоходу, M – мінімальні зміни, гіперемія, набряк і рихлість, A – вогнищеві крововиливи, ерозії, аналогічне ранжування змін застосовували для СОШ [18].

Для гістологічного аналізу зразки однакового розміру зі слизової оболонки верхньої, середньої та нижньої третини стравоходу вирізували в ділянці на 2 мм нижче нижнього стравохідного сфінктера, який відокремлює шлунок від стравоходу. Були також зібрані ділянки слизової оболонки стравохідно-шлункового переходу, фундального та пілоричного відділів шлунка. Зразки фіксували в 10% формаліні і заливали в парафін. Серійні зрізи товщиною 5 мкм фарбували гематоксиліном/еозином (Г/Е). Гісто-морфологічне оцінювання уражень СОС та СОШ охоплю-

вало три компоненти: втрата епітелію (0 – немає, 1 – мінімальні превиразкові зміни та розшарування, 2 – ерозія, 3 – виразка), судинні зміни (0 – немає, 1 – набряк, 2 – підслизова вазодилатація, 3 – периваскулярні крововиливи) та внутрішньоепітеліальна лейкоцитарна інфільтрація (0 – немає, 1 – легка, 2 – помірна, 3 – важка). Патоморфологічні дослідження (подвійні, сліпі) виконано відповідно до стандартів доказової медицини.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У щурів, які отримували напроксен, макроскопічно прояви пошкоджень в СОС виявили зміни М-типу, на відміну від щурів з контрольної групи, в яких відображається нормальний вигляд, що відповідав N-типу (рис. 1 А). У тварин з завчасним блокуванням вмісту H<sub>2</sub>S гістологічними проявами напроксен-індукованого езофагіту було злущення рогового шару, втрата кератину, епітеліальне розшарування, потовщення базальної мембрани, утворення нерівномірного підепітеліального у всіх відділах стравоходу, дезорганізація м'язового шару в ділянці стравохідно-шлунко-

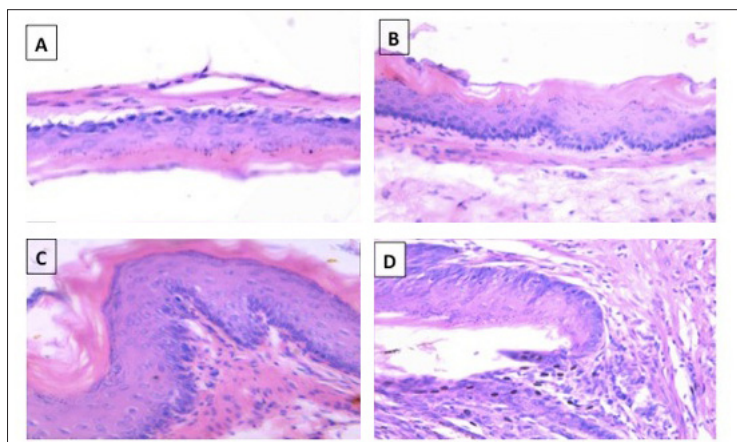


Рис. 1. Слизова оболонка стравоходу за умов норми (А) та напроксен-індукованого езофагіту (В, С, D). Гематоксилін-еозин фарбування,  $\times 120$

вого з'єднання, застій і периваскулярний діapedез у субепітеліальних стромальних структурах (рис. 1 В, С). У стравохідно-шлунковому з'єднанні також виявлено мононуклеарну інфільтрацію з нейтрофілами (рис. 1 D). У СОШ виявлено альтеративні зміни в епітеліальних структурах: множинні ерозії, генералізовані дефекти апікальних полюсів поверхневих епітеліоцитів, міжепітеліальний набряк. Крім того, у тварин з гальмуванням біосинтезу H<sub>2</sub>S через пригнічення активності CSE за допомогою PAG, а CBS введенням СНН виявлено виразну вазотропну реакцію в СОС та СОШ, що характеризувалась появою мікротромбів у субепітеліальних структурах і



гемодинамічними розладами. Крім того, ураження СОС супроводжувалось значним субепітеліальним набряком, ознаками обширного запалення з виразною лейкоцитарною інфільтрацією підслизового шару і збільшенням ознак дезорганізації спо-

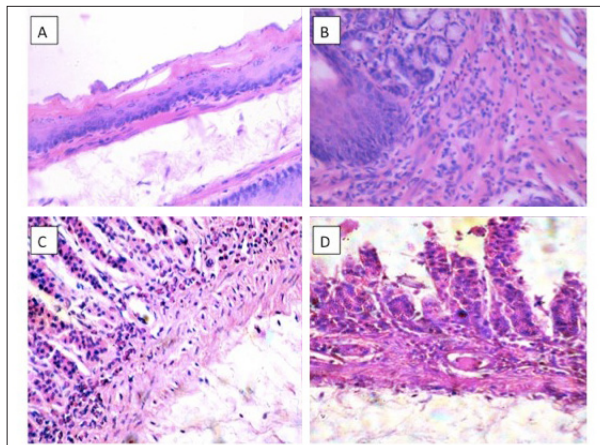


Рис. 2. Зміни слизової оболонки стравоходу (А) та шлунку (Б) за умов блокування природного синтезу цитопротекторних простагландинів аспірином. Гематоксилін-еозин фарбування,  $\times 120$

лучної тканини, а у СОШ – множинні ерозії, глибина яких поширювалась на всю товщу епітеліального шару (рис. 2 А-Д). Такі прояви були зареєстровані у всіх відділах стравоходу та шлунку, що свідчить про генералізований характер індукованих НСПЗП пошкоджень.

У групі тварин, які отримували  $H_2S$ -НСПЗП під час макроскопічного оцінювання, виявлено зміни N-типу стану СОС. Під час гістологічного оцінювання ми

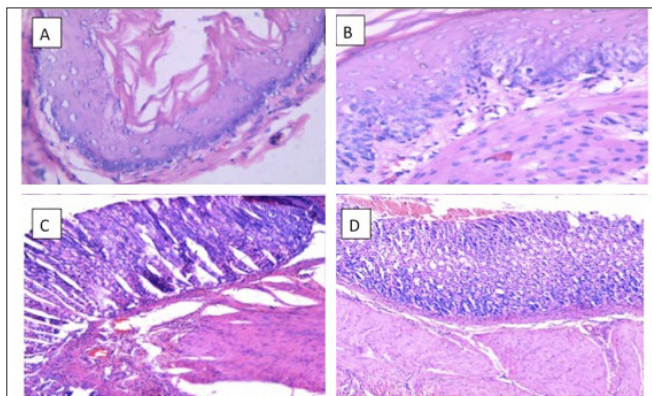


Рис. 3. Зміни слизової за умов медикаментозного езофагіту (А, В) та гастриту (С, D) за умов введення  $H_2S$ -аспірину. Гематоксилін-еозин фарбування,  $\times 120$

виявили ознаки помірного езофагіту з найвищими проявами пошкоджень у середній третині стравоходу, при відсутніх змінах у верхній і нижній третинах стравоходу та стравохідно-шлунковому з'єднанні. Застосування H<sub>2</sub>S-НСПЗП знижувало ознаки медикаментозного езофагіту (рис. 3 А, В) та гастриту (рис. 3 С, D). З'ясували, що за умов введення H<sub>2</sub>S-напроксену та H<sub>2</sub>S-аспірину цілісність СОС зберілась в усіх ділянках стравоходу та стравохідно-шлункового переходу, різко зменшились ознаки ушкодження епітелію, запалення, набряк, а також змін у субепітеліальному шарі. У стравохідно-шлунковому переході виявлено зменшення інфільтрації лейкоцитів і пошкоджень м'язового шару.

У щурів, які отримували H<sub>2</sub>S-напроксен, спостеріли збереження епітеліального бар'єра СОШ: зменшення ознак альтерації епітелію, незначне злущення епітелію у люменальний просвіт, нерівномірний субепітеліальний набряк, стаз у судинах локального кровопостачання шлунка, відсутність ознак запалення, лейкоцитарної інфільтрації. Зменшення змін у сполучній тканині свідчить про те, що H<sub>2</sub>S поліпшує рівень кропопостачання, стан мікроциркуляторного кропоплину СОС та СОШ, покращуючи трофічні процеси залежить від впливу H<sub>2</sub>S, а H<sub>2</sub>S-напроксен має протизапальну та вазодилататорну дії. Дія H<sub>2</sub>S-аспірину призвела до витоншення епітеліального шару.

Підводячи підсумки нашого дослідження про вплив H<sub>2</sub>S-НСПЗП на СОС та СОШ, ми виявили гетерогенність будови епітеліального бар'єра за локалізацією й ідентичність у прояві прозапального та вазотропного ефектів зумовленого впливом H<sub>2</sub>S. Останні експериментальні та клінічні дослідження засвідчили провідну роль експресії циклооксигенази-2 у прозапальних процесах і трансформаціях езофагіту у стравохід Барретта, а згодом в аденокарциному стравоходу чи стравохідно-шлункового з'єднання або коліту у колоректальний рак [17, 21]. Проте застосування НСПЗП для профілактичних терапевтичних заходів у пацієнтів зі стравоходом Барретта або колітом часто є небезпечним, оскільки поширене використання НСПЗП з прийманням антисекреторної терапії є неоднозначним і може сприяти появі небезпечних наслідків. Такі дані свідчать про нагальну потребу створити та апробувати у преклінічних дослідженнях іновативних засобів, які б активували природні захисні механізми й одночасно знижували ризик побічної дії багатьох «класичних» НСПЗП до спричинення деструктивних пошкоджень, що призводять до кровотеч з проксимального або дистального відділу ТС. Ми виявили, що модифікація біосинтезу H<sub>2</sub>S на тлі застосування НСПЗП може застосовуватись для моделювання ерозивно-виразкових пошкоджень у стравоході та шлунку. Літературні дані засвідчують, що у дослідженнях на генетично модифікованих тваринах визначено важливу роль біорегуляторів

сірководню CSE та CBS для обміну цистеїну і доведено, що дефіцит CBS асоціюється з гомоцистеїнемією, яка призводить до ендотеліальної дисфункції та гіпертензії. Також досліджено, що у генетично модифікованих тварин з дефіцитом CBS характерні спотворені вазотропні реакції та порушення ліпідного обміну в печінці [25]. Наші дослідження  $H_2S$ -збагачених сполук напроксену й аспірину свідчать про те, що  $H_2S$ -НСПЗП мають потенційне прикладне значення для застосування у клініці з огляду на їхню здатність поліпшувати захисні властивості СОС та СОШ через індукцію вазодилатації. Дані літератури свідчать, що така дія реалізується через множинні механізми, а саме активування  $K_{ATP}$ -каналів, up-регулювання протизапальних генів (наприклад, HO1) і down-регулювання прозапальних генів (COX 2, FOS, IL 1 $\beta$ ) [9]. Також  $H_2S$  виявляє здатність до гальмування адгезії й активування нейтрофільних гранулоцитів й агрегації тромбоцитів [11]. Проведене дослідження виявило, що при використанні терапії  $H_2S$ -НСПЗП у щурів зменшується ризик розвитку НСПЗП-індукованого езофагіту та гастриту, зменшуються ураження стравохідно-шлункового з'єднання. Таку мембранотропну дію  $H_2S$ -напроксену і  $H_2S$ -аспірину можна також пояснити вже дослідженими  $H_2S$  ефектами скавенджера та нейтралізатора пероксинітриду, важливої вільно радикальної цитотоксичної сполуки.

### ВИСНОВКИ

НСПЗП-індуковані пошкодження слизової оболонки стравоходу характеризуються деструктивними та запальними змінами в середній, нижній третині стравоходу, стравохідно-шлунковому з'єднанні та генералізованими пошкодженнями шлунка. Модифікація синтезу ендогенного  $H_2S$  на тлі застосування НСПЗП створює нову експериментальну модель, яка може бути корисна в доклінічних дослідженнях НСПЗП-індукованих уражень СОС та СОШ.  $H_2S$ -НСПЗП є малотоксичними сполуками для епітеліального бар'єра стравоходу та шлунка через виражені цитопротекторні та протизапальні властивості, що притаманні цим похідним, які реалізуються завдяки мембранотропним і вазотропним активностям  $H_2S$ . Подальше вивчення механізмів функціональної активності  $H_2S$ -НСПЗП та їхнього впливу на СОС та СОШ допоможе розробити ефективні превентивні заходи розвитку деструкцій і порушень проліферації, які виникають у осіб з хронічним запаленням.

### БІБЛІОГРАФІЧНІ ПОСИЛАННЯ

1. Almashat, S.J., Duan, L., & Goldsmith, J.D., 2014. Non-reflux oesophagitis: A review of inflammatory diseases of the oesophagus exclusive of reflux oesophagitis. In *Seminars in Diagnostic Pathology* 2(31), 89-99.



2. Anderson, L.A., Johnston, B.T., Watson, R.P., Murphy, S.J., Ferguson, H.R., Comber, H., ... & Murray, L.J., 2006. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the oesophageal inflammation-metaplasia-adenocarcinoma sequence. *Cancer research*, 66(9), 4975-4982.
3. Avidan, B., Sonnenberg, A., Schnell, T. G., Budiman-Mak, E., & Sontag, S.J., 2001. Risk factors of oesophagitis in arthritic patients. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 13(9), 1095-1099.
4. Blackler, R., Syer, S., Bolla, M., Ongini, E., & Wallace, J.L., 2012. Gastrointestinal-sparing effects of novel NSAIDs in rats with compromised mucosal defence. *PLoS One* 7, e35196.
5. Blackler, R.W., De Palma, G., Manko, A., Da Silva, G.J., Flannigan, K. L., Bercik, P., ... & Wallace, J.L., 2015. Deciphering the pathogenesis of NSAID-enteropathy 1 using proton pump inhibitors and a hydrogen sulfide-releasing NSAID. *AJP Gastrointestinal and Liver Physiology* 04/2015; DOI: 10.1152/ajpgi.00066.2015
6. Blackler, R.W., Gemic, B., Manko, A., Wallace, J.L., 2014. NSAID-gastroenteropathy: new aspects of pathogenesis and prevention. *Curr Opin Gastroenterol* 19C:11-16.
7. Bordea, M.A., Pirvan, A., Sarban, C., Margescu, C., Leucuta, D., Samasca, G., & Miu, N., 2014. Pill-induced erosive oesophagitis in children. *Clujul Medical*, 87(1), 15-18.
8. Bula, N., Gavriluk, E., Zayachkivska, O., 2014. Animal model of non-reflux oesophagitis via NSAID-induced injury and modification biosynthesis of hydrogen sulfide. *Digestive Diseases And Sciences* 8(59), 1651-1651.
9. Chan, M.V., Wallace, J.L., 2013. Hydrogen sulfide-based therapeutics and gastrointestinal diseases: translating physiology to treatments. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 305(7), G467-G473.
10. Ecker, G.A., Karsh, J., 1992. Naproxen induced ulcerative oesophagitis. *The Journal of Rheumatology*, 19(4), 646-647.
11. Flannigan, K.L., Wallace, J.L., 2015. Hydrogen sulfide-based anti-inflammatory and chemopreventive therapies: an experimental approach. *Current Pharmaceutical Design*, 21(21):3012-3022.
12. Hvid-Jensen, F., Pedersen, L., Funch-Jensen, P., Drewes, A.M., 2014. Proton pump inhibitor use may not prevent high-grade dysplasia and oesophageal adenocarcinoma in Barrett's oesophagus: a nationwide study of 9883 patients. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 39, 984-991.
13. Kandulski, A., & Malfertheiner, P., 2012. Gastroesophageal reflux disease – from reflux episodes to mucosal inflammation. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 9, 15-22.

14. Khalaf, N., Nguyen, T., Ramsey, D., & El-Serag, H.B., 2014. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and the Risk of Barrett's Oesophagus. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 12(11), 1832–1839.
15. Khyrivska, D., Hrytsevych, N., Bula, N., Pshyk-Titko, I., Savytska, M., Zayachkivska, O., Havryluk, E., 2013. Effect of CCl<sub>4</sub> and blocking H<sub>2</sub>S biosynthesis on oesophageal mucosa rats: model of nonerosive oesophagitis. *Folia medica Cracoviensia*, 54(4), 79-90.
16. Kikendall, J.W., 2007. Pill-induced oesophagitis. *Gastroenterology & Hepatology*, 3(4), 275.
17. Majka, J., Rembiasz, K., Migaczewski, M., Budzynski, A., Ptak-Belowska, A., Pabianczyk, R., ... & Brzozowski, T., 2010. Cyclooxygenase-2 (COX-2) is the key event in pathophysiology of Barrett's oesophagus. Lesson from experimental animal model and human subjects. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 61(4), 409.
18. Modlin, I.M., Hunt, R.H., Malfertheiner, P., Moayyedi, P., Quigley, E.M., Tytgat, G.N., ... & Moss, S.F., 2009. Diagnosis and management of non-erosive reflux disease—the Vevey NERD Consensus Group. *Digestion*, 80 (2), 74-88.
19. Namasivayam, V., Murray, J.A., 2013. Drug-Induced Oesophageal Injury. In *Principles of Deglutition* Springer, New York, p. 645-656.
20. Panarelli, N.C., 2014 Drug-induced injury in the gastrointestinal tract. In *Seminars in diagnostic pathology* 2(31), 165-175.
21. Sadeghi, S., Bain, C.J., Pandeya, N., Webb, P.M., Green, A.C., Whiteman, D.C., 2008. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and the risks of cancers of the oesophagus. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 17(5), 1169-1178
22. Schneider, J.L., Zhao, W.K., Corley, D.A., 2014. Aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drug use and the risk of Barrett's oesophagus. *Digestive diseases and sciences*, 1-8.
23. Souza, R.F., 2007. Molecular mechanisms of acid exposure in Barrett's oesophagus. *Inflammopharmacology*, 15(3), 95-100.
24. Takagi, K., Kasuya, Y., Watanabe, K., 1964. Studies on the drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats. *Chem Pharm Bul (Tokyo)* 12, 465-472.
25. Wallace, J.L., Blackler, R.W., Chan, M.V., da Silva, G.J., Elsheikh, W., Flannigan, K.L., et al., 2015. Anti-inflammatory and cytoprotective actions of hydrogen sulfide: translation to therapeutics. *Antioxidants & redox signaling*, 22(5), 398-410.36
26. Zayachkivska, O., Bula, N., Khyrivska, D., Gavrilyuk, E., & Wallace, J.L., 2015. Exposure to non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and suppressing hydrogen sulfide synthesis leads to altered structure and impaired function of the oesophagus and oesophagogastric junction. *Inflammopharmacology*, 23:91-99.

## SUMMARY

Nazar BULA, Dzvenyslava KHYRIVSKA, Elena GAVRILYUK<sup>1</sup>, Oksana ZAYACHKIVSKA

## H<sub>2</sub>S-DERIVATIVE NSAIDS AS NEW MODULATORS OF ESOPHAGEAL AND GASTRIC MUCOSA INTEGRITY

Department of Physiology, <sup>1</sup>Department of Pathology and Forestic Medicine,  
Danylo Halytsky Lviv National Medical University,  
Lviv, Ukraine, ozayachkivska@gmail.com

**Introduction.** The non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAID) are among the key factors which can commonly cause injury in the esophagus and stomach with the dangerous consequences that dramatically limit their long-term use. At the same time, COX-2 expression has potent malignant effects and NSAID can be cytoprotective target-based therapy against cancer transformation. It has been discovered recently that hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) can act as a critical mediator of gastro-intestinal mucosal protection and repair in preclinical models of GERD and peptic ulcer. It has also been proven that the addition of a H<sub>2</sub>S-releasing moiety to the classical NSAID structures results in NSAID-H<sub>2</sub>S with anti-inflammatory activity. Thus, we review effects of H<sub>2</sub>S derivate of NASID: H<sub>2</sub>S-naproxen (ATB-346) and H<sub>2</sub>S-aspirin (ATB-340) vs classical naproxen and aspirin during the long-term administration on esophageal and gastric injury.

**Materials and methods:** Rats were treated with vehicle (control), naproxen, aspirin, ATB-346, ATB-340 with or without being subjected to water immersion restricted stress (Takagi et al. 1964). Some subgroups of rats were pre-treated with an inhibitor of H<sub>2</sub>S synthesis cystathionine  $\gamma$ -lyase (PAG; 25 mg/kg) or cystathionine  $\beta$ -synthase (CHH, 20 mg/kg). The damage of the oesophageal mucosa and oesophagogastric junction was estimated and scored using a histological damage index, according to Vevey's recommendations (2011).

**Results.** Treatment with naproxen and aspirin resulted in the development of severe esophagitis and damage to the esophagogastric junction with disorganization of the muscle plate and irregular submucosal oedema and induction of erosive gastritis. The NSAID-related damage of esophageal and gastric mucosa was exacerbated by inhibitors of H<sub>2</sub>S biosynthesis PAG and CHH and attenuated by treatment with H<sub>2</sub>S-NSAID.

**Conclusions.** The inhibition of endogenous H<sub>2</sub>S synthesis provides a novel experimental model that can be useful in the preclinical studies of the NSAID-related non-reflux oesophagitis. H<sub>2</sub>S-NSAID contributes significantly to esophageal and gastric mucosal defence.

**Key words:** esophagus; esophagogastric junction; stomach, Hydrogen sulfide; cystathionine  $\gamma$ -lyase; cystathionine  $\beta$ -synthase; NSAID; mucosal defence

Стаття надійшла 25. 05. 2015  
Після доопрацювання 20. 06. 2015  
Прийнята до друку 02. 07. 2015