

Цитопротекторний вплив NO, H₂S та системи циклооксигеназа/простагландини в слизовій оболонці товстої кишки щурів при виразковому коліті

І.С. Фоменко¹, Т.І. Бондарчук¹, А.С. Юет², О.Я. Склярів¹

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького;

² ННЦ Інститут біології та медицини Київського національного університету імені Тараса Шевченка; e-mail: iryna.fomenko.lviv@gmail.com

Досліджували роль газових медіаторів NO та H₂S, системи циклооксигеназа/простагландини в слизовій оболонці товстої кишки щурів за умов експериментального виразкового коліту, викликаного введенням ацетатної кислоти. При виразковому коліті порушувалися слизовий бар'єр товстої кишки, з'являлися виразкові дефекти. Введення на тлі коліту сполуки АТВ-346 суттєво зменшувало площу структурно-геморагічних уражень порівняно з впливом напроксену чи целекоксибу, що зумовлено дією H₂S. Неселективне інгібування циклооксигенази напроксеном супроводжувалося зниженням вмісту H₂S у сироватці крові та рівня експресії гена CBS у слизовій оболонці товстої кишки, тоді як за умов дії АТВ-346 ці показники наближались до контрольних значень. Напроксен (так само, як і АТВ-346) знижував рівень експресії гена Nos 2 та активність індукцибельної NO-синтази (iNOS), що різко зростала за умов коліту. Таким чином, дія похідного напроксену – сполуки АТВ-346 зумовлена ефектами сірководню та переважним впливом на систему iNOS та в цілому чинить більш виражений цитопротективний вплив порівняно з самим напроксеном на тлі експериментального виразкового коліту.

Ключові слова: слизова оболонка товстої кишки; оксид азоту; сірководень.

ВСТУП

Запальні захворювання товстої кишки – виразковий коліт і хвороба Крона – одні з найважливіших проблем сучасної гастроентерології. Інвалідизація населення, велика розповсюдженість цієї патології серед працездатних людей віком від 20 до 40 років відносить її до соціально значимої. У виникненні захворювання мають значення низка чинників: зміни імуногістологічної реактивності, дисбіотичні зсуви, алергічні реакції, генетика, нервово-психічні порушення, аутоімунні процеси тощо [1]. Розвиток виразкового коліту супроводжується інфільтрацією слизової оболонки товстої кишки (СОТК) нейтрофілами та моноцитами, які, активуючись, вивільняють прозапальні цитокіни та кисневі радикали, внаслідок чого підвищується активність індукцибельної

© І.С. Фоменко, Т.І. Бондарчук, А.С. Юет, О.Я. Склярів

NO-синтази (iNOS), циклооксигенази-2 (ЦОГ-2), синтез ядерного транскрипційного фактора NF-каппа В, оксиду азоту (NO), а також посилюються процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Це в свою чергу призводить до розвитку деструктивних ушкоджень СОТК – порушується слизовий бар'єр, спостерігаються набряк, ерозії, виразки, крововиливи [2]. Незважаючи на численні відомості про роль NO-синтазної системи в розвитку патохімічних змін при виразковому коліті [3], питання про її значення залишається дискусійним, так само як і системи циклооксигеназа (ЦОГ)/ простагландини (ПГ) та сірководню (H₂S). Дані досліджень цього газового медіатора дуже суперечливі [4, 5]. Значний науковий інтерес викликає також взаємозв'язок систем синтезу H₂S і NO за умов виразкоутворення в товстій кишці.

Мета нашої роботи – дослідження впливу інгібіторів ЦОГ на тлі виразкового коліту на показники NO- та H₂S-синтезуючих систем.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на 40 білих безпородних щурах-самцях масою 180–200 г згідно з правилами, передбаченими Європейською Комісією з нагляду за лабораторними дослідженнями за участю тварин. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію. У день проведення досліду їх не годували, забезпечуючи безперешкодний доступ до води. Тварин поділили на 5 груп по 8 щурів у кожній. До 1-ї контрольної групи ввійшли інтактні тварини, до 2-ї – з модельованими виразковими ушкодженнями СОТК (введення 4%-ї ацетатної кислоти *per rectum*) [6], тваринам 3, 4 і 5-ї груп на тлі коліту вводили неселективний інгібітор ЦОГ напроксен («Sigma», США), інгібітор ЦОГ, структурний аналог напроксену, спроможний вивільняти H₂S – АТВ-346 («Antibe Therapeutics Inc», Канада) селективний інгібітор ЦОГ-2 целекоксиб («Sigma», США) відповідно. Всі досліджувані інгібітори ЦОГ вводили в дозі 10 мг/кг, перорально за 15 хв до моделювання коліту.

Забір матеріалу для досліджень проводили під уретановим наркозом (1,1 мг/кг). На поверхні СОТК визначали площу та індекс деструктивних ушкоджень за шкалою, описаною у попередніх публікаціях [7], у гомогенатах СОТК – активність NO-синтаз [8], нітрит-аніона та суми нітрит- і нітрат-аніонів [9]. У сироватці крові досліджували концентрацію H₂S [10]. Для проведення зворотнотранскрипційної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) кДНК синтезували в 20 мкл реакційної суміші, яка містила 2 мкг РНК, 1 ммоль дезокснуклеотидтрифосфату (dNTP), 200 од. зворотної транскриптази («Thermo Scientific», Литва), 20 од. рибонуклеазного інгібітора («Thermo Scientific», Литва), 20 пкмоль зворотного праймера. ПЛР проводили в 30 мкл реакційної суміші,

що містила 3 мкл кДНК, буферний розчин для ПЛР, по 200 мкмоль/л кожного dNTP, по 1 мкмоль/л кожного праймера, до 2,5 ммоль/л MgCl₂ та 1 од. ДНК полімерази «Taq DNA Polymerase (recombinant)»; «Thermo Scientific», Литва). Продукти ПЛР розділяли електрофоретично в 1,6%-му агарозному гелі («Roche», Німеччина), у 0,5-кратному TBE-буферному розчині, при напрузі 5–10 В/см [11]. Для напівкількісного аналізу експресії ампліконів на основі денситометрії використовували програму ImageJ 1.45s («NIH», США). Індeksi експресії мРНК визначали для кожного зразка [12].

Статистичну обробку експериментальних результатів проводили з використанням прикладної програми ANOVA «Statistica». Вірогідними вважали розбіжності при P < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У разі моделювання ацетатно-кислого коліту з'являлися деструктивні зміни, а саме: порушення слизового бар'єра СОТК, наявність набряку, крапкові та масивні крововиливи, глибокі ерозії, виразкові дефекти, інфільтрація поліморфноядерних лейкоцитів та лімфоцитів. При цьому загальна площа структурно-геморагічних ушкоджень становила 77,2 ± 25,1 мм², а індекс деструктивних ушкоджень – 4,6 ± 0,69 бала (рис. 1).

Самостійне застосування неселективних інгібіторів ЦОГ, традиційних нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП): індометацину, напроксену, диклофенаку спричиняло виразкові дефекти СОТК [13]. У наших дослідженнях введення напроксену на тлі коліту не потенціювало виразкоутворення, проте й не чинило цитопротективного ефекту (див. рис. 1, в). За таких умов загальна площа та індекс деструктивних ушкоджень наближалися до значень при коліті (див. рис. 1, а, б).

Використання АТВ-346 на тлі виразкового коліту спричинювало виражений цитопротективний вплив на морфологічний стан СОТК (див. рис. 1). Його поверхня

залишалася сильно гіперемованою, проте площа та індекс виразкових ушкоджень були значно нижчими порівняно зі значеннями як у тварин із колітом, так і зі значеннями у тварин, яким вводили напроксен на тлі коліту. Інгібування ЦОГ-2 целекоксибом призводило до зниження площі деструктивних ушкоджень СОТК на 20% (P < 0,01) та індексу деструктивних ушкоджень на 35% (P < 0,01). Целекоксиб, маючи проти-запальну дію, інгібував ЦОГ-2 та синтез за її участю простагландинів і медіаторів запалення при виразковому коліті, проте зниження площі структурно-геморагічних ушкоджень та індексу деструктивних ушкоджень за умов його впливу було менш виражене порівняно з дією АТВ-346.

Концентрація H₂S у сироватці крові тварин із виразковим колітом знижувалась на 14% (P < 0,05; див. рис. 2, а). При цьому рівень експресії гена *CBS* зменшувався у СОТК на 26% (P < 0,01; рис. 3, б, в). Дані літератури стосовно зміни концентрації H₂S

у СОТК при коліті є доволі суперечливими. З одного боку, описано зростання його вмісту при індукованому динітробензолсульфоною кислотою (DNBS) коліті [14], разом із тим це асоціюють із розвитком дисбіозу [15]. Враховуючи, що у разі моделі DNBS-коліту спостерігаються зміни в товстій кишці при хронічному запальному процесі, а введення 4%-ї ацетатної кислоти відображає гострий процес, можна припустити, що на перших етапах формування виразкових дефектів у СОТК концентрація H₂S знижується, а далі суттєво зростає. Крім того, гостра модель виразкового коліту не передбачає тривалої експозиції, необхідної для значних змін видового складу пристінкової мікрофлори. Однак не викликає сумніву факт, що використання донорів синтезу сірководню, зокрема NaHS, суттєво покращує клінічну картину перебігу експериментального виразкового коліту.

Неселективне інгібування ЦОГ напрок-

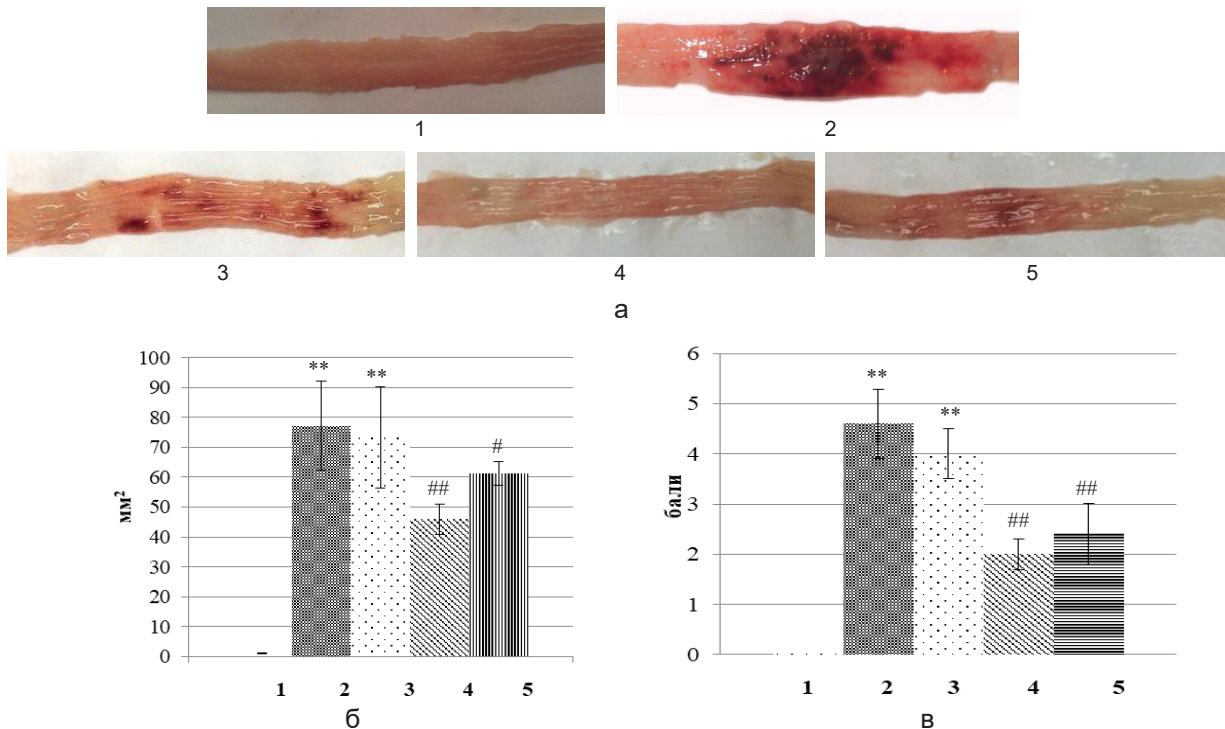


Рис. 1. Макроскопічний статус (а), площа (б) та індекс (в) структурно-геморагічних ушкоджень слизової оболонки товстої кишки за умов дії нестероїдних протизапальних препаратів на тлі коліту: 1 – контроль; 2 – ацетатно-кислий коліт; 3 – вплив напроксену на тлі коліту; 4 – дія АТВ-346 на тлі коліту; 5 – вплив блокування циклооксигенази-2 на тлі коліту. *P < 0,05; **P < 0,01 порівняно з контролем; #P < 0,05, ##P < 0,01 порівняно з показниками при коліті

сеном за умов експериментального коліту супроводжувалося тенденцією до зниження концентрації H_2S у сироватці крові та до значного зниження (більш ніж удвічі, $P < 0,01$) рівня експресії гена *CBS* у СОТК, яке на початковому етапі запалення може бути критичним через втрату протизапальних властивостей сірководню (див. рис. 2, а). Введення АТВ-346 підвищувало цей показник на 12%, повертаючи його до конт-

рольного значення. Рівень експресії гена *CBS* у СОТК був більш ніж удвічі вищим ($P < 0,01$) порівняно з впливом напроксену на тлі ацетатно-кислого коліту, проте все ще значно нижчим за контроль (див. рис. 2, в). Отже, нами показано, що ступінь ушкодження СОТК значною мірою корелює з концентрацією H_2S та експресією ферменту *CBS*, що забезпечує його синтез.

Слід відмітити зростання вмісту нітрит-аніона (NO_2^-) на 42% ($P < 0,01$) та суми нітрит-і нітрат-аніонів на 30% ($P < 0,01$) при ацетатно-кислом коліті (див. рис. 3, а, б), що відповідає даним літератури [7] і є одним із чинників формування ерозивно-деструктивних змін СОТК. Неселективне інгібування ЦОГ напроксеном на тлі експериментального коліту супроводжувалося тенденцією до зниження концентрації NO_2^- та зменшенням на 24% ($P < 0,05$) суми нітрит- і нітрат-аніонів. Виражене зниження вмісту стабільних метаболітів NO спостерігалось при використанні АТВ-346: концентрація NO_2^- за цих умов знижувалася на 34% ($P < 0,01$), а сума нітрит- і нітрат-аніонів – на 29% ($P < 0,01$) порівняно з показниками при коліті. Найімовірніше такі суттєві зміни були зумовлені вивільненням H_2S із АТВ-346, що доводить існування метаболічних взаємозв'язків досліджуваних газових медіаторів у СОТК при виразковому коліті. Натомість за умов селективного інгібування ЦОГ-2 целекоксибом вміст нітрит-аніона достовірно не змінювався, залишаючись на рівні показників при коліті.

Відомо, що при виразковому коліті зростає експресія гена *Nos 2*, який кодує іNOS [16]. Це підтверджено і нашими дослідженнями – введення *per rectum* ацетатної кислоти зумовлювало підвищення цього показника майже втричі ($P < 0,01$; рис. 3, б, в). Неселективне інгібування ЦОГ напроксеном на тлі коліту призводило до зниження експресії гена *Nos 2* у СОТК вдвічі ($P < 0,01$). Це, ймовірно, пов'язано зі зниженням вмісту простагландину, котрий чинить активуваль-

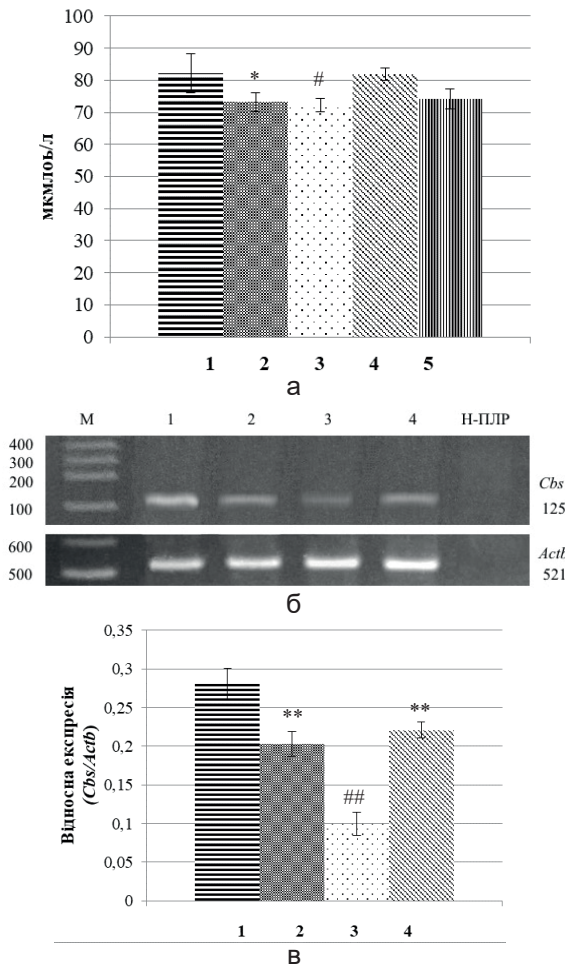


Рис. 2. Концентрація H_2S у сироватці крові (а) та рівень експресії гена *CBS* у слизовій оболонці товстої кишки шурів (б, в) за умов впливу нестероїдних протизапальних препаратів на тлі коліту: 1 – контроль; 2 – ацетатно-кислий коліт; 3 – вплив напроксену на тлі коліту; 4 – дія АТВ-346 на тлі коліту. М – маркер молекулярної маси; Н-ПЛР – негативний контроль полімеразної ланцюгової реакції; ** $P < 0,01$ порівняно з контролем; ## $P < 0,01$ порівняно з показниками при коліті

ний вплив на експресію генів, що кодують iNOS. Виразеніше зниження рівня експресії гена *Nos 2* (з поверненням до показників контрольної групи) спостерігалось при дослідженні дії АТВ-346 на тлі коліту.

Дані літератури стосовно впливу H₂S на рівень експресії генів, відповідальних за синтез NO, є доволі суперечливими. Одними вченими показано, що донори H₂S підвищують експресію iNOS [17], інші стверджують протилежне [18]. Наші дослідження доводять, що за умов виразкового коліту H₂S, вивільнений із АТВ-346, спричинює виражений гальмівний вплив на рівень експресії гена *Nos 2*.

Розвиток структурно-геморагічних ускладнень у СОТК при виразковому коліті зумовлював зростання активності загальної NOS на 145% (P < 0,01), eNOS – на 21%, iNOS – майже у 7 разів (P < 0,01; таблиця). Усі

досліджувані НПЗП знижували активність iNOS, при цьому найвираженіший ефект чинив АТВ-346, який зменшував її у 2,5 раза (P < 0,01) порівняно з відповідними показниками за умов коліту. Ймовірно, це було наслідком зниження рівня експресії гена *Nos 2*. Нами раніше було показано, що підвищення концентрації H₂S за використання АТВ-346 призводило до зростання рівня експресії гена *Nos 2*, що кодує iNOS у слизовій оболонці шлунка [19]. Таким чином, доведено існування взаємозв'язку метаболізму газових медіаторів у СОТК при експериментальному виразковому коліті.

Особливості впливу НПЗП при коліті, насамперед, пов'язані з інгібуванням активності ЦОГ. На наступному етапі ми визначили рівень експресії гена *Ptgs 2*, що кодує ензим у щурів. При експеримен-

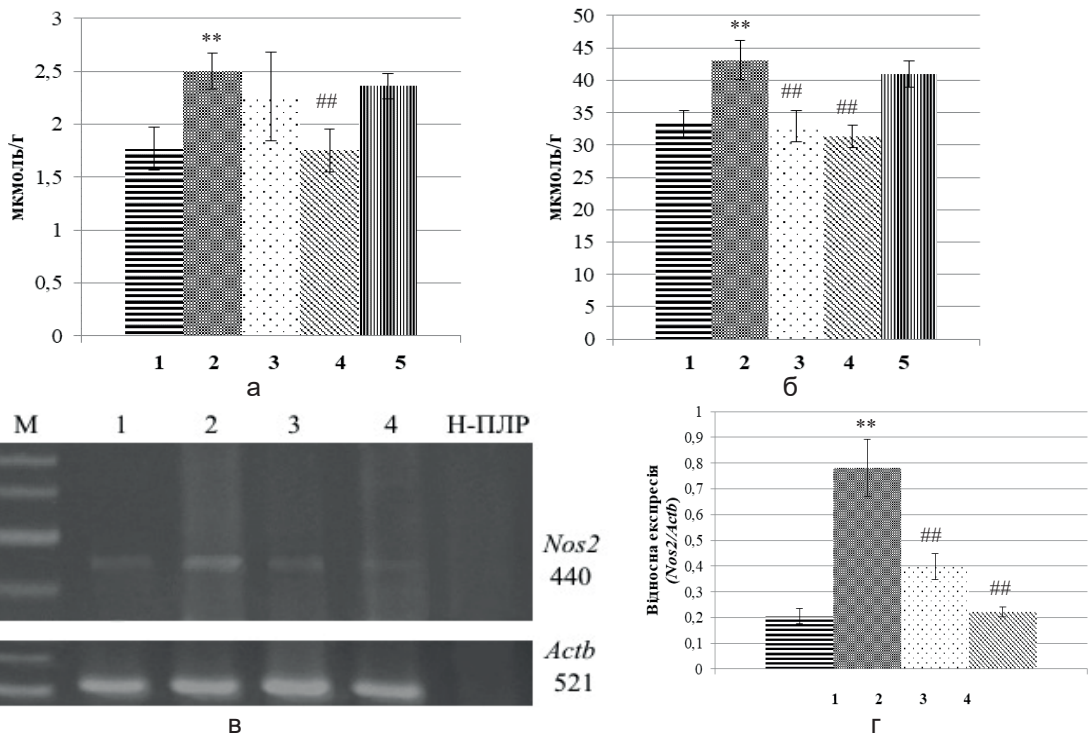


Рис. 3. Концентрація нітрит-аніона (а), суми нітрит- і нітрат-аніонів (б) та рівень експресії гена *Nos 2* (в, г) у гомогенатах слизової оболонки товстої кишки щурів за умов впливу нестероїдних протизапальних препаратів на тлі коліту: М – маркер молекулярної маси; Н-ПЛР – негативний контроль полімеразної ланцюгової реакції; п.н. – пара нуклеотидів; 1 – контроль; 2 – ацетатно-кислий коліт; 3 – вплив напроксену на тлі коліту; 4 – дія АТВ-346 на тлі коліту; 5 – вплив інгібування циклооксигенази-2 на тлі коліту. **P < 0,01 порівняно з контролем; ##P < 0,01 порівняно з показниками при коліті

Активність ізоформ NO-синтази (нмоль НАДФН₂/хв·г) у слизовій оболонці товстої кишки щурів за умов впливу нестероїдних протизапальних препаратів на тлі коліту (M ± m, n = 8)

Схема досліджу	Індуцибельна NOS	Конститутивна NOS
Контроль	0,24 ± 0,07	0,85 ± 0,09
Коліт	1,65 ± 0,05**	1,03 ± 0,32
Коліт і напроксен	0,69 ± 0,13##	0,69 ± 0,09#
Коліт і АТВ-346	0,66 ± 0,12##	0,75 ± 0,11
Коліт і цефекоксиб	0,74 ± 0,15##	0,83 ± 0,19

**P < 0,01 порівняно з контролем; #P < 0,05, ##P < 0,01 порівняно з показниками при коліті.

тальному коліті він зріс на 53% (P < 0,05; рис. 4). Введення і напроксену, і АТВ-346 спричинювало зниження рівня експресії гена *Ptgs 2*, проте зміни були статистично недостовірними. Таким чином, неселективні інгібітори впливають головним чином на активність, але не на експресію ЦОГ-2.

Впродовж багатьох років проводяться численні дослідження для зниження гастро-ї ентеротоксичного впливу НПЗП. Є дані щодо дії модифікованої NO ацетилсаліцилової кислоти, H₂S-вмісного напроксену (АТВ-346), індометацину (АТВ-343), кетобруфену (АТВ-352) [20]. Проведені нами дослідження доводять позитивний вплив сполуки АТВ-346, він реалізувався, з одного боку, інгібуванням синтезу ендогенних простагландинів (ефекти, аналогічні дії напроксену – «материнської» сполуки для створення АТВ-346), з іншого боку – зростання вмісту H₂S викликає притаманну

цій молекулі дію на різні процеси у слизовій оболонці, що в цілому проявляється зростанням протективних механізмів. Протективні ефекти донорів H₂S були неодноразово продемонстровані в різних органах та тканинах [21, 22]. На нашу думку, одним із ключових векторів, за допомогою яких H₂S, вивільнений з АТВ-346, чинив свій захисний вплив при коліті можна назвати його вплив на рівень експресії й активності іNOS. Інші науковці переконливо довели цей ефект H₂S, але щодо експресії й активності еNOS [23]. Це цікаво з огляду на те, що NO (продукт еNOS реакції) і H₂S властива синергічна судинно-розширювальна дія. Натомість впливу сірководню на рівень експресії й активності іNOS присвячено набагато менше уваги. Ми вважаємо, що зменшення проявів нітрозоксидативного стресу опосередковано дією на функціонування ланок іNOS і слугує важливим чинником цитопротективної дії АТВ-346.

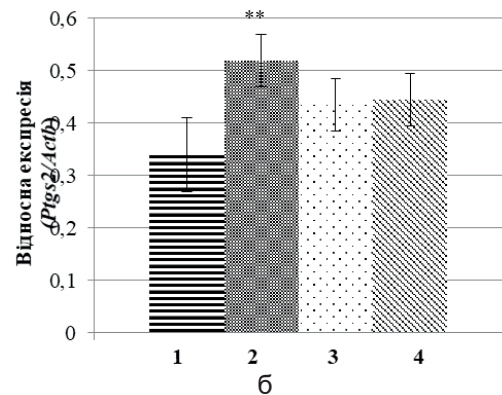
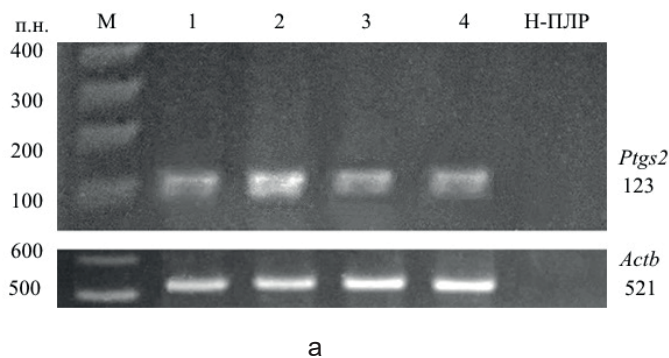


Рис. 4. Рівень експресії гена *Ptgs 2* у слизовій оболонці товстої кишки щурів за умов впливу нестероїдних протизапальних препаратів на тлі коліту: 1 – контроль; 2 – ацетатно-кислий коліт; 3 – вплив напроксену на тлі коліту; 4 – дія АТВ-346 на тлі коліту. М – маркер молекулярної маси; Н-ПЛП – негативний контроль полімеразної ланцюгової реакції; п.н. – пара нуклеотидів; **P < 0,05 порівняно з контролем

Отже, за умов використання АТВ-346 на тлі експериментального виразкового коліту суттєво покращився її морфологічний стан. Це супроводжувалося зниженням площі структурно-геморагічних ушкоджень та індексу деструктивних ушкоджень в СОТК. Цитопротективний ефект був вираженішим порівняно з напроксеном чи целекоксибом, що зумовлено вивільненням H₂S. У разі неселективного інгібування ЦОГ напроксеном знижувався вміст H₂S у сироватці крові та рівень експресії гена *CBS*. За умов використання АТВ-346 ці показники були суттєво вищими і наближались до контрольних значень. Рівень експресії гена *Nos 2* та активність iNOS суттєво зростали за умов експериментального коліту, а введення напроксену та АТВ-346 знижували їх. Тому серед перспективних розробок терапії неспецифічного виразкового коліту та хвороби Крона – донори H₂S, або сполуки, спроможні його вивільняти чи стимулювати експресію генів, що кодують ферменти синтезу.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

И.С. Фоменко, Т.И. Бондарчук, А.С. Юет, А.Я. Скляр

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ NO, H₂S И СИСТЕМЫ ЦИКЛООКСИГЕНАЗА/ПРОСТАГЛАНДИНЫ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

Исследовали роль газовых медиаторов NO и H₂S, системы циклооксигеназа/простагландини в слизистой оболочке толстой кишки крыс в условиях экспериментального язвенного колита, вызванного введением уксусной кислоты. При язвенном колите нарушался слизистый барьер толстой кишки, наблюдались язвенные дефекты. Введение на фоне колита соединения АТВ-346 существенно снижало площадь структурно-геморрагических

повреждений в сравнении с влиянием напроксена или целекоксиба, что обусловлено действием H₂S. Неселективное ингибирование циклооксигеназы напроксеном сопровождалось снижением содержания H₂S в сыворотке крови и уровня экспрессии гена *CBS* в слизистой оболочке толстой кишки, тогда как в условиях действия АТВ-346 указанные показатели приближались к контрольным значениям. Напроксен (так же, как и АТВ-346) снижал уровень экспрессии гена *Nos 2* и активность iNOS, которая существенно увеличивалась в условиях колита. Таким образом, действие производного напроксена – соединения АТВ-346, высвобождающего H₂S, обусловлено эффектами сероводорода и преобладающим влиянием на систему iNOS и в целом производит более выраженное цитопротективное влияние в сравнении с самим напроксеном на фоне экспериментального язвенного колита. Ключевые слова: слизистая оболочка толстой кишки; оксид азота; сероводород.

I.S. Fomenko¹, T.I. Bondarchuk¹, A.S. Huet², A.Ya. Sklyarov¹

INVESTIGATION OF THE ROLE OF NO, H₂S AND THE CYCLOOXYGENASE/PROSTAGLANDINS SYSTEM IN LARGE INTESTINAL MUCOSA OF RATS UNDER CONDITION OF EXPERIMENTAL ULCERATIVE COLITIS

¹ Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine;

² Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine; e-mail: iryna.fomenko.lviv@gmail.com

The role of gaseous mediators NO and H₂S and the cyclooxygenase/prostaglandins system in large intestinal mucosa was investigated in experiments on white rats under condition of experimental ulcerative colitis caused by introduction of acetic acid. Ulcerative colitis was accompanied by the formation of lesions of mucosal barrier of large intestine and the presence of ulcerative defects. The administration of H₂S-releasing compound АТВ-346 on the background of colitis significantly decreases the area of lesions as compared to naproxen or celecoxib action, that is the most probably caused by the action of H₂S. Nonselective cyclooxygenase inhibition by naproxen was accompanied by the decrease of H₂S concentration in blood serum and the level of gene *Cbs* expression in large intestinal mucosa, whereas under the condition of АТВ-346 action the above parameters were close to their normal values. Both naproxen and АТВ-346 decreased the level of gene *Nos2* expression and activity of iNOS, which was sharply increased in colitis. Thus, the action of the naproxen derivative H₂S releasing compound АТВ-346 is mainly caused by the action of hydrogen sulfide and its influence on iNOS system, and is manifested by a better cytoprotective effect as compared to naproxen action on the background of experimental ulcerative colitis.

Key words: large intestinal mucosa; nitric oxide; hydrogen sulfide.

REFERENCES

1. Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis. *Lancet*. 2017;389(10080): 1756-70.
2. Martin AR, Villegas I, Alarcon de la Lastra C. The COX-2 inhibitor, rofecoxib, ameliorates dextran sulphate sodium induced colitis in mice. *Inflamm Res*. 2005;54(4): 145-51.
3. Sklyarov OYa, Panasyuk NB, Djura OR. Role of NOS-synthase system and lipid peroxidation processes in cytoprotective mechanisms under condition of ulcerative colitis. *Exp Clin Physiol Biochem*. 2009;1:38-44.
4. Motta JP, Flannigan KL, Agbor TA, Beatty JK, Blackler RW, Workentine ML, Da Silva GJ, Wang R, Buret AG, Wallace JL. Hydrogen sulfide protects from colitis and restores intestinal microbiota biofilm and mucus production. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(5):1006-17.
5. Tsubota M, Kawabata A. Role of hydrogen sulfide, a gastrin transmitter, in colonic pain and inflammation. *Yakugaku Zasshi*. 2014;134(12):1245-52.
6. Myers BS, Martin JS, Dempsey DT, Parkman HP, Thomas RM, Ryan JP. Acute experimental colitis decreases colonic circular smooth muscle contractility in rats. *Am J Physiol*. 1997;273:928-36.
7. Sklyarov AYa, Panasyuk NB, Fomenko IS. Role of nitric oxide-synthase and cyclooxygenase/lipoxygenase systems in development of experimental ulcerative colitis. *J Physiol Pharmacol*. 2011;62(1):65-73.
8. Sumbaev VV, Yasinskay IM. Influence of DDT on activity of nitric oxide synthase in the rats' liver, lungs and brain. *Contemp Probl Toxicol*. 2000;3:3-7.
9. Kiselyk IO, Lutsyk MD, Shevchenko LYu. Peculiarities of nitrites and nitrates studies in peripheral blood of patients with viral hepatitis and syndrome of jaundice of different etiology. *Lab Diagnost*. 2001;3:43-5.
10. 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;5(4):10-5.
11. Sambrook J, Russell D. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 3rd ed, Cold Spring Harbor Laboratory Pr; 2000.
12. Konturek PC, Brzozowski T, Pierzchalski P, Kwiecien S, Pajdo R, Hahn EG, Konturek SJ. Activation of genes for spasmolytic peptide, transforming growth factor alpha and for cyclooxygenase COX-1 and COX-2 during gastric adaptation to aspirin damage in rats. *Aliment Pharmacol Ther*. 1998;12(8):767-77.
13. Moninuola OO, Milligan W, Lochhead P, Khalili H. Systematic review with meta-analysis: association between acetaminophen and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and risk of crohn's disease and ulcerative colitis exacerbation. *Aliment Pharmacol Ther*. 2018;47(11):1428-39.
14. Flannigan KL, Agbor TA, Motta JP. Proresolution effects of hydrogen sulfide during colitis are mediated through hypoxia-inducible factor-1 α . *FASEB J*. 2015;29(4):1591-1602.
15. Attene-Ramos MS, Wagner ED, Plewa MJ, Gaskins HR. Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent. *Mol Cancer Res*. 2006;4(1):9-14.
16. Rumi G, Tsubouchi R, Nishio H. Dual role of endogenous nitric oxide in development of dextran sodium sulfate-induced colitis in rats. *J Physiol Pharmacol*. 2004;55(4):823-36.
17. Bir SC, Kolluru GK, McCarthy P, Shen X, Pardue S, Pattillo CB, Christopher GK. Hydrogen sulfide stimulates ischemic vascular remodeling through nitric oxide synthase and nitrite reduction activity regulating hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis. *J Am Heart Assoc*. 2012;1(5):e004093.
18. Polhemus DJ, Lefer DJ. Emergence of hydrogen sulfide as an endogenous gaseous signaling molecule in cardiovascular disease. *Circ Res*. 2014;114:730-7.
19. Fomenko I, Sklyarov A, Denysenko N, Hrycevych N, Dranitsyna A, Wallace J. Interactions between nitric oxide and hydrogen sulfide generating systems in gastric mucosa under condition of the combined action of stress and NSAIDs. *J App Pharm Sci*. 2017;7(8):13-9.
20. Thibault MP, Tremblay É, Wallace JL, Beaulieu JF. Effect of ketoprofen and ATB-352 on the immature human intestine: Identification of responders and non-responders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2019;68(5):623-9.
21. Shymans'ka TV, Hoshovs'ka Iu V, Semenikhina OM, Sahach VF. Effect of hydrogen sulfide on isolated rat heart reaction under volume load and ischemia-reperfusion. *Fiziol Zh*. 2012;58(6):57-66.
22. Strutynska NA, Korkach YuP, Mys LA, Luchkova AYu, Sagach VF. L-cysteine stimulates endogenous hydrogen sulfide synthesis, suppresses oxidative stress and mitochondrial permeability transition pore opening in the heart of old rats. *Fiziol Zh*. 2020;66(2-3):3-12.
23. Kumar M, Sandhir R. Hydrogen sulfide suppresses homocysteine-induced glial activation and inflammatory response. *Nitric Oxide*. 2019;90:15-28.

*Матеріал надійшов
до редакції 09.07.2020*