

ROZPRAWY HABILITACYJNE UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO  
COLLEGIUM MEDICUM  
WYDZIAŁ LEKARSKI

SŁAWOMIR KWIECIEN

STRES OKSYDACYJNY  
W DOŚWIADCZALNYM  
USZKODZENIU  
BŁONY ŚLUZOWEJ  
ŻOŁĄDKA



WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

STRES OKSYDACYJNY  
W DOŚWIADCZALNYM USZKODZENIU  
BŁONY ŚLUZOWEJ ŻOŁĄDKA

Katedra Fizjologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego  
Kierownik Katedry: Prof. dr hab. Wiesław Pawlik

Zakład Fizjologii Doświadczalnej  
Kierownik Zakładu: Prof. dr hab. Tomasz Brzozowski

ROZPRAWY HABILITACYJNE UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO  
COLLEGIUM MEDICUM  
WYDZIAŁ LEKARSKI

SŁAWOMIR KWIECIEN

STRES OKSYDACYJNY  
W DOŚWIADCZALNYM USZKODZENIU  
BŁONY ŚLUZOWEJ ŻOŁĄDKA

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

RECENZENT WYDAWNICZY

*Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Celiński, Uniwersytet Medyczny w Lublinie*

PROJEKT OKŁADKI

*Dorota Heliasz*

REDAKTOR

*Dorota Węgierska*

KOREKTOR

*Katarzyna Jagiela*

SKŁAD I ŁAMANIE

*Anna Gagatek*

© Copyright by Sławomir Kwiecień & Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego  
Wydanie I, Kraków 2009  
All rights reserved

ISBN 978-83-233-2698-4



[www.wuj.pl](http://www.wuj.pl)

Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego  
Redakcja: ul. Michałowskiego 9/2, 31-126 Kraków  
tel. 012-631-18-81, tel./fax 012-631-18-83  
Dystrybucja: ul. Wrocławska 53, 30-011 Kraków  
tel. 012-631-01-97, tel./fax 012-631-01-98  
tel. kom. 0506-006-674, e-mail: [sprzedaz@wuj.pl](mailto:sprzedaz@wuj.pl)  
Konto: PEKAO SA, nr 80 1240 4722 1111 0000 4856 3325

*Składam serdeczne podziękowanie  
Panu Prof. dr. hab. Wiesławowi W. Pawlikowi  
– Kierownikowi Katedry Fizjologii CM UJ,  
Panu Prof. dr. hab. Stanisławowi J. Konturkowi,  
Panu Prof. dr. hab. Tomaszowi Brzozowskiemu  
za cenne uwagi i życzliwość w trakcie realizacji  
mojej pracy.*



## SPIS TREŚCI

1. WSTĘP.....	9
1.1. Bariera śluzówkowa i czynniki regulujące jej działanie.....	9
1.2. Powstawanie i mechanizmy działania reaktywnych form tlenu.....	11
1.3. Peroksydacja lipidów.....	12
1.4. Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD).....	14
1.5. Zredukowany glutation (GSH).....	15
1.6. Doświadczalne modele uszkodzeń błony śluzowej żołądka.....	16
2. CEL PRACY.....	19
3. METODYKA BADAŃ.....	21
3.1. Dane ogólne.....	21
3.2. Wywoływanie stresowych uszkodzeń błony śluzowej żołądka.....	21
3.3. Inaktywacja aferentnych włókien czuciowych przez wysokie dawki kapsaicyny.....	21
3.4. Ocena żołądkowego przepływu krwi oraz liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka..	22
3.5. Produkty peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE).....	22
3.6. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD).....	23
3.7. Pomiar stężenia zredukowanego glutationu (GSH).....	23
3.8. Doświadczalne grupy zwierząt.....	24
3.9. Analiza statystyczna wyników.....	29
4. WYNIKI.....	31
4.1. Ocena uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowego przepływu krwi.....	31
4.2. Peroksydacja lipidów i mechanizmy antyoksydacyjne.....	44
4.2.1. Wpływ substancji uwalniających tlenek azotu.....	44
4.2.2. Wpływ podawania aspiryny z suplementacją tlenu azotu.....	48
4.2.3. Wpływ pentoksyfiliny i substancji modyfikujących produkcję tlenu azotu.....	51
4.2.4. Efekty podawania inhibitorów cyklooksygenazy.....	56
4.2.5. Wpływ odnerwienia kapsaicynowego.....	60
5. DYSKUSJA.....	69
6. WNIOSKI.....	81
7. STRESZCZENIE.....	83
8. PIŚMIENNICTWO.....	85
9. SPIS RYCIN.....	101





# 1. WSTĘP

## 1.1. Bariera śluzówkowa i czynniki regulujące jej działanie

Błona śluzowa odgrywa bardzo istotną rolę w funkcjonowaniu żołądka. Czynnościowo pełni ona funkcję bariery śluzówkowej, zabezpieczającej głębiej położone tkanki przed działaniem szkodliwych składników soku żołądkowego [27, 183, 190]. W klasycznym ujęciu barierę śluzówkową tworzą komórki nabłonka błony śluzowej żołądka, wraz ze ścisłymi złączami międzykomórkowymi, oraz przylegająca warstwa śluzu [36, 188]. Fundamentalną rolę we właściwym funkcjonowaniu bariery śluzówkowej, w utrzymaniu jej integralności, pełni prawidłowy przepływ krwi [151–153, 169].

Istnieje szereg mechanizmów regulujących fizjologiczny przepływ krwi w błonie śluzowej żołądka. Należą do nich: tlenek azotu (NO), czuciowe włókna aferentne (włókna C) oraz produkty aktywności enzymu – cyklooksygenazy [28, 52, 160, 176, 246].

NO produkowany jest w śródbłonku naczyniowym przez enzym – syntazę NO. Substratem dla tego enzymu jest aminokwas L-arginina [58, 173, 203]. Syntaza NO (NOS) wbudowuje tlen ( $O_2$ ) do cząsteczki L-argininy w procesie 5-elektronowego utleniania [23, 115]. Tak powstały NO dyfunduje ze śródbłonka do mięśniówki gładkiej naczynia krwionośnego. Reaguje tam z cyklazą guanylową, stymulując ją do produkcji cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP). Wzrost poziomu cGMP w miocyocie gładkim powoduje jego rozkurcz, prowadząc w konsekwencji do zwiększenia przepływu krwi przez to naczynie [128, 142, 217]. Analogiczny rezultat obserwujemy po podaniu egzogennych nitratów, czyli substancji będących donorami NO, takich jak: 3-morfolino-sydnonimina (SIN-1) [86, 259], S-nitrozo-N-acetyl-D,L-penicylamina (SNAP) [5, 231, 242], nitrogliceryna [7, 142, 182] lub NO-aspiryna [26, 43, 165]. Niektóre substancje naczyniorozszerzające, takie jak pentoksyfilina, działają, przynajmniej częściowo, bez pośrednictwa NO na miocyty gładkie, powodując ich rozkurcz [184, 187, 238].

NO jest powszechnie akceptowany jako jeden z kluczowych czynników regulujących przepływ krwi w błonie śluzowej żołądka, a przez to utrzymujący integralność bariery śluzówkowej [33, 65, 172]. Zahamowanie produkcji NO znacząco upośledza czynności śluzówki żołądka [55, 201]. Działanie to jest obserwowane po zastosowaniu  $N^G$ -nitro-L-argininy (L-NNA) [17]. L-NNA jest niespecyficznym inhibitorem NOS, który hamując NOS, upośledza mikrokrążenie żołądkowe, prowadząc do opóźniania gojenia uszkodzeń błony śluzowej żołądka, wywołanych przez szkodliwe czynniki [131, 171, 215].

Zahamowanie NOS przez L-NNA ma charakter odwracalny, gdyż może być przełamane przez podanie L-argininy, będącej właściwym substratem dla NOS [58, 59, 184].

Ważnym czynnikiem utrzymującym integralność błony śluzowej żołądka są czuciowe włókna aferentne typu C [38, 39, 48]. Włókna te tworzą gęsty splot wokół podśluzówkowych naczyń krwionośnych [53, 221, 223]. Ich zakończenia, znajdujące się w okolicy naczyń, uwalniają wazoaktywne peptydy, takie jak: peptyd pochodny genu kalcytoniny (CGRP), substancja P (SP), naczynioaktywny peptyd jelitowy (VIP), neurotensyna (NT) [189, 222]. Wymienione peptydy zwiększają żołądkowy przepływ krwi, szczególnie przez błonę śluzową żołądka. W żołądku główną rolę odgrywa CGRP [219, 220].

Włókna C są wrażliwe na podanie kapsaicyny. Kapsaicyna jest neurotoksyną, której działanie na sensoryczne włókna aferentne zależy od dawki [15]. Niskie dawki kapsaicyny stymulują włókna C do wydzielania CGRP i innych peptydów [241, 257, 263]. Natomiast kapsaicyna, podana w wysokich dawkach, ujawnia swe neurotoksyczne działanie, powodując zniszczenie włókien czuciowych [62]. Zniszczenie włókien C tą metodą daje możliwość, w badaniach na modelu zwierzęcym, określenia roli włókien C w utrzymaniu integralności bariery śluzówkowej żołądka [25, 185, 214] (ryc. 1).

Kolejnym czynnikiem istotnym w prawidłowym funkcjonowaniu bariery śluzówkowej jest enzym – cyklooksigenaza (COX) [157, 164]. Substratem dla COX jest kwas arachidonowy, odszczepiony przez fosfolipazę A<sub>2</sub> z fosfolipidów błon komórkowych [64]. Dzięki aktywności COX kwas arachidonowy przekształcany jest do cyklicznych nadtlenków PGG<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub>, a w końcowym etapie do związków z grupy prostaglandyn: prostaglandyny E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) i prostacykliny (PGI<sub>2</sub>) [76, 154, 156].

Prostaglandyny zapobiegają uszkodzeniu głębiej położonych tkanek poprzez zwiększenie produkcji śluzu, wzmożenie wydzielania jonów wodorowęglanowych (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), neutralizujących kwaśną treść żołądkową, powodują także wzrost przepływu krwi przez błonę śluzową żołądka [130, 174].

Wyróżnia się dwie izoformy COX: izoformę konstytutywną, czyli COX-1, oraz izoformę indukowalną COX-2 [46, 67–69, 249]. W klasycznym ujęciu COX-1 odgrywa rolę gastroprotekcijną, gdyż produkowane przez nią prostaglandyny powodują wyżej wymienione korzystne działanie wzmacniające efektywność fizjologicznych funkcji bariery śluzówkowej [42, 265]. Natomiast COX-2, której powstanie indukowane jest przez mediatory stanu zapalnego, wywołuje niekorzystne skutki spowodowane powstawaniem dużej ilości prostaglandyn, odpowiedzialnych wówczas za pojawienie się objawów stanu zapalnego, takich jak wzrost przepuszczalności naczyń, ból i gorączka [26, 32, 40, 64, 167].

W świetle tej teorii użycie nieselektywnych inhibitorów COX, np. aspiryny (kwas acetylosalicylowy), powoduje – oprócz efektów terapeutycznych wynikających z blokowania COX-2 – również skutki uboczne, będące rezultatem zablokowania COX-1 [161, 226, 264]. Wyniki obecnych badań wskazują jednakże, iż COX-2 wykazuje także korzystną aktywność, ważną dla fizjologicznego funkcjonowania błony śluzowej żołądka [61, 76, 237].

Dlatego też wydaje się uzasadnione zastosowanie selektywnych inhibitorów COX-1 (SC-560) i COX-2 (rofekoksyb) w celu zbadania udziału obu izoform COX w funkcjonowaniu bariery śluzówkowej [44, 82, 85].

Ze względu na skutki uboczne działania aspiryny, obiektem badań stała się pochodna kwasu acetylosalicylowego, połączona wiązaniem kowalencyjnym z cząsteczką NO poprzez dołączenie reszty nitroksybutylowej: NO-aspiryna [250]. Substancja ta ma łączyć cechy inhibitora COX z właściwościami donora NO, a przez to wykazywać mniejsze skutki uboczne swego działania [37, 63] (ryc. 1).

Wyniki badań przeprowadzonych w ostatnich latach wykazały istotną rolę reaktywnych form tlenu w powstawaniu uszkodzeń błony śluzowej żołądka [182, 184–188]. Celowe więc wydaje się zbadanie czynników regulujących funkcjonowanie bariery śluzówkowej w kontekście metabolizmu tlenowego.

## 1.2. Powstawanie i mechanizmy działania reaktywnych form tlenu

Wolne rodniki tlenowe to atomy lub cząsteczki charakteryzujące się obecnością w powłoce walencyjnej niesparowanego elektronu. Sprawia to, że rodniki posiadają wysoką reaktywność chemiczną przejawiającą się, między innymi, w zdolnościach utleniających, czyli w dążeniu do odbierania elektronów innym substancjom w celu uzupełnienia własnej powłoki walencyjnej [9, 81]. Najważniejsze typy wolnych rodników tlenowych to: anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^{\bullet-}$ ), rodnik wodoronadtlenkowy ( $HO_2^{\bullet}$ ), rodnik wodorotlenowy ( $OH^{\bullet}$ ) [83, 129, 210]. Silne własności utleniające ma również nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ), niebędący jednak wolnym rodnikiem. Dlatego też uzasadnione jest wprowadzenie ogólniejszego pojęcia „reaktywne formy tlenu”, obejmującego, oprócz wolnych rodników, również inne metabolity tlenu mające większą reaktywność chemiczną niż cząsteczka tlenu w stanie podstawowym ( $O_2$ ) [9, 82]. Ich źródłem mogą być procesy zachodzące wewnątrz komórki (mechanizm wewnątrzpochodny), jak również uwalnianie na zewnątrz komórki (mechanizm zewnątrzpochodny) [105, 186, 188].

Mechanizm wewnątrzpochodny powstawania reaktywnych form tlenu najlepiej ilustruje model niedokrwienia (ischemia) z następującą po nim reperfuzyją [82, 186, 188]. Niedokrwienie komórki powoduje spadek produkcji adenozynotrójfosforanu (ATP) w mitochondriach. W tych warunkach ATP ulega rozpadowi do adenozynomonofosforanu (AMP), a ten do adenozyny i hipoksantyny [9]. Równocześnie w niedokrwionej komórce mitochondria uwalniają ze swego wnętrza jony wapnia ( $Ca^{2+}$ ) do cytoplazmy [212, 247]. Wzrost cytoplazmatycznej puli  $Ca^{2+}$  aktywuje wewnątrzkomórkową proteazę, która dokonuje konwersji dehydrogenazy ksantynowej w oksydazę ksantynową [228]. Dehydrogenaza ksantynowa katalizuje utlenianie hipoksantyny do kwasu moczowego przy współdziałaniu dwunukleotydu nikotynamidoadeninowego ( $NAD^+$ ). Procesowi temu nie towarzyszy powstawanie wolnych rodników tlenowych. Natomiast oksydaza ksantynowa wykorzystuje  $O_2$ , dostarczany w czasie reperfuzyji, do utleniania hipoksantyny z wytworzeniem  $O_2^{\bullet-}$ , wykazującego działanie cytotoksyczne [72].

Inne mechanizmy wewnątrzkomórkowe powstawania  $O_2^{\bullet-}$  związane są z niecałkowitą redukcją  $O_2$  w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym. W prawidłowo działającym łańcuchu oddechowym cząsteczka  $O_2$ , w procesie czteroelektronowej redukcji, jest przekształcana do wody. Zaburzenie tego procesu skutkuje powstaniem  $O_2^{\bullet-}$  [9, 85, 188].

W modelu zewnątrzpochodnym uwalnianie  $O_2^{\bullet-}$  następuje na zewnętrznej powierzchni błony komórkowej.  $O_2^{\bullet-}$  uwalniany jest tu na zewnątrz komórki lub do wnętrza fagosomów. W tym przypadku nie dochodzi więc do uszkodzenia przez  $O_2^{\bullet-}$  struktur wewnętrznych komórki, w której powstaje. Modelowym przykładem tego mechanizmu jest produkcja  $O_2^{\bullet-}$  przez neutrofile [105, 206, 216, 243]. Neutrofil ma w swej błonie komórkowej enzym – oksydazę NADPH [113, 116, 118], która zbudowana jest z dwóch białkowych podjednostek: flawoproteiny i cytochromu  $b_{558}$  [9, 11]. Układ ten katalizuje przenoszenie 2 elektronów na cząsteczkę  $O_2$ , prowadząc do powstania wolnego rodnika tlenowego, jakim jest  $O_2^{\bullet-}$  [74, 229, 252]. Źródłem elektronów jest w tym układzie zredukowany fosforan dwunukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADPH), do którego oksydaza NADPH ma większe powinowactwo niż do NADH, wobec czego NADPH jest praktycznie jedynym substratem dla tego enzymu w komórce [121]. Tak powstały  $O_2^{\bullet-}$  dyfunduje do otaczających tkanek [114, 129]. Istotnym wyróżnikiem  $O_2^{\bullet-}$  jest fakt, że w fizjologicznym zakresie pH jest on na tyle trwały, by móc dyfundować w komórce do organelli odległych od miejsca jego powstania [9].

Kasazaki i współpracownicy [141] wykazali w swoich badaniach związek między wewnątrzpochodnym i zewnątrzpochodnym źródłem reaktywnych form tlenu.  $O_2^{\bullet-}$  pochodzący z systemu oksydazy ksantynowej (mechanizm wewnątrzpochodny) sprzyja infiltracji tkanek przez neutrofile. Wzrost tkankowej migracji neutrofilii prowadzi do zwiększenia produkcji  $O_2^{\bullet-}$  w mechanizmie zewnątrzpochodnym.

W tkankach  $O_2^{\bullet-}$  ulega dalszym przemianom. Dwa rodniki  $O_2^{\bullet-}$  w reakcji dysmutacji ulegają przekształceniu w  $H_2O_2$  [120, 180]. Reakcja ta może przebiegać spontanicznie lub być katalizowana przez dysmutazę ponadtlenkową (*superoxide dismutase* – SOD) [119, 122].  $H_2O_2$  reaguje z  $O_2^{\bullet-}$ , powodując powstanie rodnika  $OH^{\bullet}$  (reakcja Habera-Weissa). Proces ten ulega przyspieszeniu w obecności jonów żelaza  $Fe^{2+}$  (reakcja Fentona) [9, 79, 83].

Utworzone w ten sposób reaktywne formy tlenu uszkadzają otaczające je komórki. Kasazaki i współpracownicy [141] oraz Yasukawa i współpracownicy [260] próbowali ustalić z użyciem elektronowego rezonansu paramagnetycznego z pułapkowaniem spinowym, która reaktywna forma tlenu ma przeważający udział w uszkodzeniu błony śluzowej żołądka szczura. Stwierdzili, że  $OH^{\bullet}$  jest w dużej mierze odpowiedzialny za to uszkodzenie.

Niezależnie jednak od tego, który rodzaj wolnych rodników tlenowych odgrywa większą rolę, pierwszym etapem uszkodzenia komórki jest utlenianie składników błony komórkowej, a zwłaszcza lipidów, w procesie peroksydacji [9, 71, 73, 186].

### 1.3. Peroksydacja lipidów

Peroksydacja lipidów jest procesem utleniania przez reaktywne formy tlenu nienasyconych kwasów tłuszczowych, prowadzącym do powstania nadtlenuków lipidów [111]. W modelu *in vivo* peroksydacji podlegają przede wszystkim reszty wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, wchodzących w skład fosfolipidów błon komórkowych [9, 14].

W wyniku ataku wolnego rodnika tlenowego ulega oderwaniu atom wodoru, związany z atomem węgla, znajdującym się pomiędzy dwoma wiązaniami podwójnymi, gdyż podwójne wiązania osłabiają wiązanie węgla z wodorem w przylegającym atomie węgla w łańcuchu kwasu tłuszczowego. W wyniku tych przemian wolny rodnik tlenowy ulega redukcji do wody, a w powstałym wolnym rodniku alkilowym kwasu tłuszczowego dochodzi do przegrupowania wiązań podwójnych i powstania w ten sposób wiązań sprzężonych, czyli nieprzedzielonych atomem węgla, który nie uczestniczyłby w wiązaniu podwójnym. Wolny rodnik kwasu tłuszczowego z wiązaniami sprzężonymi przyłącza cząsteczkę tlenu; w wyniku tych przemian powstaje wolny rodnik nadtlenkowy [9, 91]. Wolny rodnik nadtlenkowy kwasu tłuszczowego ma zdolność do odrywania atomów wodoru od innych reszt wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Rezultatem tych reakcji jest powstanie nadtlenku kwasu tłuszczowego, a ściślej nadtlenku lipidu. Nadtlenki lipidów są cząsteczkami mniej stabilnymi niż lipidy i mogą ulec rozpadowi do produktów wolnorodnikowych pod wpływem jonów żelaza lub miedzi [193, 204]. Ze względu na wysoką reaktywność wolnych rodników nadtlenkowych wobec otaczających cząsteczek lipidów, a także z uwagi na chemiczną niestabilność nadtlenków lipidów, proces peroksydacji lipidów ma charakter lawinowy, ulegając szybkiemu rozprzestrzenieniu w lipidach błon komórkowych [9, 88].

Procesowi peroksydacji, pod wpływem wolnych rodników tlenowych, ulegają także inne składniki błon komórkowych, takie jak białka czy aminokwasy [187, 244]. Jednakże procesy te nie mają charakteru kaskadowego, jak ma to miejsce w przypadku peroksydacji lipidów, jak również nie rozprzestrzeniają się w takim stopniu w obrębie błony komórkowej [9, 109].

Uszkodzenie błony komórkowej, której głównym składnikiem są lipidy, mocno zaburza jej funkcjonowanie. Nadtlenki lipidów ulegają, podobnie jak prawidłowe lipidy, metabolicznej degradacji w procesie  $\beta$ -oksydacji, z tą różnicą, że końcowym produktem rozpadu nadtlenków lipidów są specyficzne substancje, takie jak dialdehyd malonowy (malonyldialdehyd – MDA) czy 4-hydroksynonenal (4-HNE) (ryc. 2) [8, 98, 188, 198].

Ze względu na swoje właściwości wymienione produkty peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE) zostały uznane za miarę wolnorodnikowego uszkodzenia tkanek [8, 182, 184–187]. Produkty peroksydacji lipidów modyfikują właściwości błon komórkowych. Wprowadzenie grup polarnych do cząsteczek fosfolipidów, znajdujących się wewnątrz dwuwarstwy lipidowej, obniża hydrofobowość lipidowego wnętrza błony komórkowej, zwiększając w ten sposób jej przepuszczalność [9, 137, 138]. Peroksydacja lipidów powoduje zmiany błonowych potencjałów elektrycznych w kierunku depolaryzacji, prowadzi do hamowania aktywności białek transportujących (pomp błonowych) [179]. Peroksydacja lipidów rozprzega fosforylację oksydacyjną w mitochondriach wskutek zwiększenia przez produkty rozpadu nadtlenków lipidów przepuszczalności wewnętrznej błony mitochondrialnej dla protonów, przez co dochodzi do zniwelowania różnicy stężeń protonów po obu stronach wewnętrznej błony mitochondrialnej [9].

Aldehydowe produkty peroksydacji lipidów, głównie MDA, reagują z grupami aminowymi białek błonowych, tworząc wiązania typu zasad Schiffa, czego konsekwencją jest usztywnienie błony komórkowej. Ponadto produkty peroksydacji lipidów, reagując z białkami błonowymi, zmieniają ich właściwości antygenowe. Utlenianiu ulegają także

grupy tiolowe, powodując inaktywację centrów aktywnych enzymów błonowych [123, 147, 209].

Kolejny produkt peroksydacji lipidów – 4-HNE – był obiektem badań pod kątem jego wpływu na funkcjonowanie komórek, w których powstaje. W świetle tych badań 4-HNE został uznany za wiarygodny marker stresu oksydacyjnego. Ten toksyczny produkt peroksydacji lipidów prawdopodobnie uczestniczy w patogenezie wielu chorób, takich jak miażdżycza, choroba Alzheimera. Ponadto 4-HNE moduluje wzrost komórek i jest cząsteczką sygnałową [240, 261]. 4-HNE ze względu na łatwość dyfuzji może być odpowiedzialny za odległe uszkodzenia w tkance [90]. Charakterystyczną cechą budowy tej cząsteczki jest sprzężony system podwójnego, nienasyconego wiązania między kolejnymi atomami węgla w łańcuchu 4-HNE a grupą ketonową (karbonylową). Ten układ ułatwia reakcję 4-HNE z grupami tiolowymi i aminowymi składników komórkowych (grupy aminowe mogą reagować z grupą karbonylową 4-HNE, tworząc zasady Schiffa) [230].

4-HNE reaguje z różnymi biomolekułami: białkami, lipidami, peptydami. Poznanie konsekwencji tych reakcji wymaga dalszych badań. Poza tym 4-HNE stymuluje chemotaksję neutrofilii, aktywuje błonową fosfolipazę C (PLC), kinazę adenylową. Stymulowanie chemotaksji neutrofilii sprzyja dalszemu uszkodzeniu tkanek przez reaktywne formy tlenu [90, 230].

Produkty peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE) działają więc w komórce wielokierunkowo i wiedza o ich stężeniach daje obraz zaburzeń cytofizjologicznych.

#### 1.4. Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD)

Anionorodniki ponadtlenkowe ( $O_2^{\bullet-}$ ) ulegają przekształceniu w nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ) w wyniku spontanicznej lub katalizowanej dysmutacji. Dysmutaza ponadtlenkowa (*superoxide dismutase* – SOD) katalizuje reakcję przekształcania (dysmutacji)  $O_2^{\bullet-}$  do mniej reaktywnego chemicznie  $H_2O_2$  [12, 166, 196, 239].

SOD jest w chemicznej klasyfikacji enzymów oksydoreduktazą ponadtlenek : ponadtlenek, występującą w 3 postaciach: cytoplazmatycznej, mitochondrialnej i pozakomórkowej. Wymienione postacie zawierają w swych centrach aktywnych jony metali: miedź i cynk w przypadku cytoplazmatycznej i pozakomórkowej odmiany SOD, mangan w przypadku postaci mitochondrialnej [117, 124, 144, 235].

Zasadniczą rolę fizjologiczną odgrywa cytoplazmatyczna odmiana SOD. Enzym ten jest zbudowany z 2 identycznych podjednostek o wysokiej stabilności chemicznej [89]. Stabilność tę zawdzięcza obecności sieci wiązań wodorowych, mostków disulfidowych w obrębie podjednostek, a także obecności jonów cynku w centrum aktywnym enzymu. Natomiast drugi metal centrum aktywnego – jon miedziowy – decyduje o chemicznej aktywności tego enzymu. Działanie SOD jest możliwe dzięki naprzemiennym procesom utleniania jonów miedziowych ( $Cu^+$ ) i redukcji jonów miedziowych ( $Cu^{2+}$ ) przez  $O_2^{\bullet-}$ , w obecności jonów  $H^+$ , czego rezultatem jest powstanie  $H_2O_2$  [9]. W celu zwiększenia efektywności unieszkodliwiania  $O_2^{\bullet-}$  SOD ma na swojej powierzchni układ naładowa-

nych reszt aminokwasowych, tworzących gradient pola elektrycznego. Gradient ten kieruje substrat, który jest anionem (czyli  $O_2^{\cdot-}$ ), wprost do centrum aktywnego [104, 108].

Dzięki omówionym właściwościom SOD jest pierwszym i kluczowym enzymem, o dużej wydajności, otwierającym kaskadę zmiatania wolnych rodników tlenowych. Powstały, w wyniku aktywności SOD,  $H_2O_2$  wymaga dalszej neutralizacji i przekształcenia do niereaktywnych chemicznie produktów.  $H_2O_2$  jest dalej rozkładany albo przez katalazę, albo przez peroksydazę glutationową. Katalaza jest enzymem przyspieszającym rozpad  $H_2O_2$  do wody i tlenu [119]. Drugi szlak metabolizowania  $H_2O_2$  przebiega dzięki aktywności peroksydazy glutationowej i współpracującej z nią reduktazy glutationu. Rozkładowi  $H_2O_2$  do wody przez peroksydazę glutationową towarzyszy przejście glutationu, z postaci zredukowanej (GSH), w formę utlenioną (GSSG) (ryc. 2) [19, 188, 251]. Peroksydaza glutationowa ma większe powinowactwo do  $H_2O_2$ , co sugeruje jej istotniejszą rolę w większości sytuacji fizjologicznych [3, 9].

## 1.5. Zredukowany glutation (GSH)

Zredukowana postać glutationu (GSH) jest substancją, która w sposób wielokierunkowy przeciwdziała szkodliwym skutkom stresu oksydacyjnego w tkankach [80]. Pełni on funkcję głównego wewnątrzkomórkowego buforu antyoksydacyjnego o dużej pojemności [10]. Pod względem chemicznym glutation jest peptydem zbudowanym z 3 aminokwasów: kwasu glutaminowego, cysteiny i glicyny ( $\gamma$ -glutamylcysteinylglicyny) [9, 10]. Zasadnicze znaczenie dla wypełniania przez glutation jego funkcji fizjologicznych ma obecność grupy tiolowej (SH), pochodzącej od reszty cysteinowej peptydu [213]. Dostępność grupy tiolowej glutationu dla utleniającego działania reaktywnych form tlenu stanowi istotę funkcjonowania glutationu jako antyoksydacyjnego buforu [87]. Wskutek reakcji z wolnymi rodnikami grupa SH ulega utlenieniu, tworząc wolny rodnik glutationu ( $GS^{\cdot}$ ) lub disulfid glutationu (GSSG). Obie te formy ulegają w dalszych przemianach biochemicznych regeneracji do postaci wyjściowej glutationu ze zredukowaną SH [22]. Dlatego też omawianą wyjściową postać glutationu ze zredukowaną grupą SH nazywa się, dla większej precyzji, zredukowanym glutationem i oznacza skrótami GSH (**G** – glutation, **SH** – grupa tiolowa) [10, 85, 188].

Aby mogło zostać utrzymane wysokie stężenie GSH w komórce, musi być on odporny na działanie peptydaz. Za tę właściwość jest odpowiedzialne wiązanie izopeptydowe w cząsteczce GSH, utworzone przez  $\gamma$ -karboksylową resztę kwasu glutaminowego z grupą aminową cysteiny. Nietypowość opisanego wiązania izopeptydowego chroni glutation przed wewnątrzkomórkową biodegradacją, umożliwiając mu pełnienie funkcji buforu antyoksydacyjnego [9].

Antyoksydacyjne działanie GSH jest realizowane na wielu płaszczyznach. GSH stanowi substrat peroksydazy glutationowej – enzymu redukującego  $H_2O_2$  (ryc. 2). GSH może również hamować proces peroksydacji lipidów, redukując nadtlenki lipidów bezpośrednio lub za pośrednictwem peroksydazy nadtlenków lipidów. W procesie hamo-



wania peroksydacji lipidów przez glutation uczestniczy też, w pewnym stopniu, wyżej wymieniona peroksydaza glutationowa [9, 184, 188].

Kolejną istotną funkcją GSH jest ochrona białek komórkowych przed oksydacyjnym uszkodzeniem. Wolne rodniki tlenowe działają na białka zarówno poprzez tworzenie wolnych rodników białkowych, jak i poprzez utlenianie grup SH w cząsteczkach białek, co ma szczególne znaczenie w przypadku białek enzymatycznych, gdyż prowadzi do ich inaktywacji. GSH redukuje wolne rodniki białkowe, sam stając się wolnym rodnikiem (GS<sup>•</sup>). W przypadku utleniania grup tiolowych białek GSH działa najczęściej za pośrednictwem enzymów – tiolotransferaz. Tiolotransferazy katalizują redukcję grup SH białek przez GSH. GSH ulega wówczas przekształceniu w formę utlenioną – GSSG [9, 10].

GSH jest również substratem dla transferaz glutationowych. Dzięki działaniu tych enzymów GSH jest sprzęgany z ksenobiotykami, umożliwiając ich eliminację z ustroju [4]. Transferazy glutationowe umożliwiają także eliminację przez GSH produktów peroksydacji lipidów [21, 194]. GSH jest sprzęgany z 4-HNE. Koniugat GSH-4-HNE może zostać usunięty z komórki na drodze błonowego transportu aktywnego [1, 6].

GSH może także współpracować z SOD w celu eliminacji wolnych rodników tlenowych. GSH, reagując z wolnymi rodnikami, tworzy GS<sup>•</sup>. GS<sup>•</sup> reaguje z GSH, tworząc wolny rodnik disulfidu glutationu (GSSG<sup>•</sup>). GSSG<sup>•</sup> przekazuje elektron na cząsteczkę tlenu, prowadząc do powstania O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, który jest eliminowany dzięki aktywności SOD [177, 258].

Opisane szlaki metaboliczne zmiatania wolnych rodników tlenowych wskazują na wielopłaszczyznowość powiązań pomiędzy GSH, SOD, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> i produktami peroksydacji lipidów [9, 10, 117, 184].

## 1.6. Doświadczalne modele uszkodzeń błony śluzowej żołądka

W doświadczalnych modelach wywoływania uszkodzeń błony śluzowej żołądka, najczęściej stosowanymi sposobami indukowania ostrych uszkodzeń są: dożołądkowe podanie alkoholu etylowego [160, 183, 186], poddanie zwierząt termicznemu stresowi wodnemu [60, 97], a także wywołanie niedokrwienia (ischemii) z następującą po nim reperfuzyją [155]. Ekspozycja błony śluzowej żołądka na działanie wyżej wymienionych czynników uszkadzających powoduje powstanie zmian patologicznych w postaci stanu zapalnego (często o charakterze krwotocznym), nadżerek, a nawet wrzodów [159]. Przeprowadzono liczne badania nad rolą zaburzeń w żołądkowym przepływie krwi, produkcji śluzu, udziału prostaglandyn, wydzielania żołądkowego [31, 35], NO [191], czynników wzrostu [30], peptydów, jak leptyna [41, 50] i grelina [163], regulacji nerwowej (oś mózgowo-jelitowa) [51], udziału mikroorganizmów (*Helicobacter pylori*, *Candida albicans*) [45, 47, 66, 158, 170] w patomechanizmie powstawania i gojenia się uszkodzeń błony śluzowej żołądka. Jednakże rola przemian reaktywnych form tlenu i metabolizmu oksydacyjnego, w procesach zaburzenia funkcjonowania bariery śluzówkowej i powstawania wrzodów żołądka, jest słabo poznana. Dotychczas najdokładniej poznano rolę

reaktywnych form tlenu w powstawaniu wrzodów, indukowanych przez niedokrwienie z następową reperfuzją. Wykazano rolę wolnych rodników tlenowych, powstających w fazie reperfuzji, zarówno w mechanizmie zewnątrzpochodnym, będącym konsekwencją nacieku neutrofilii, jak i w mechanizmie wewnątrzpochodnym, wynikającym z zaburzeń metabolizmu komórkowego. Szczegóły tych zjawisk zostały opisane w podrozdziale 1.2. Rezultatem działania reaktywnych form tlenu w modelu ischemia–reperfuzja jest nasilenie procesu peroksydacji lipidów, wyrażone wzrostem tkankowego poziomu MDA i 4-HNE, jak również osłabienie mechanizmów antyoksydacyjnych, przejawiające się spadkiem aktywności SOD [186–188].

W naszych dotychczasowych badaniach [186] stwierdziliśmy, że poddanie zwierząt 3,5-godzinnemu termicznemu stresowi wodnemu powoduje porównywalne zmiany w zakresie stężeń produktów peroksydacji lipidów, jak i osłabienia mechanizmów antyoksydacyjnych, z tymi, które były obserwowane w modelu niedokrwinnym (ischemia–reperfuzja). Wskazuje to na istotną rolę metabolizmu oksydacyjnego w powstawaniu uszkodzeń stresowych. W świetle tych wyników celowe wydaje się dokładniejsze zbadanie współzależności między czynnikami modyfikującymi funkcjonowanie bariery śluzówkowej w modelu stresowym a nasileniem uszkodzenia tkanek przez wolne rodniki tlenowe i wydajnością ustrojowych mechanizmów antyoksydacyjnych.



## 2. CEL PRACY

Uszkodzenie tkanek przez reaktywne formy tlenu stanowi istotny czynnik w patogenezie nadżerek i owrzodzeń błony śluzowej żołądka. Informacje przedstawione we wstępie wskazują na podobieństwa przemian zachodzących w błonie śluzowej żołądka w modelu 3,5-godzinnej stresu wodnego, w porównaniu z klasycznym modelem uszkodzeń indukowanych przez wolne rodniki, jakim jest niedokrwienie z reperfuzją. W związku z tym celowe wydaje się zbadanie kluczowych czynników regulujących funkcjonowanie bariery śluzówkowej w modelu stresowym i wykazanie związku ich działania ze skutkami stresu oksydacyjnego.

Celem podjętych badań było:

1. Stwierdzenie nasilenia procesu peroksydacji lipidów, będącego odzwierciedleniem stopnia oksydacyjnego uszkodzenia tkanek, poprzez pomiar tkankowego poziomu MDA i 4-HNE.
2. Określenie wydajności tkankowych mechanizmów antyoksydacyjnych poprzez pomiar aktywności SOD i stężenia GSH.
3. Ocena żołądkowego przepływu krwi i liczby uszkodzeń w błonie śluzowej żołądka.
4. Ustalenie roli NO poprzez podanie jego donorów, a także blokerów i substratów dla NOS.
5. Określenie roli czuciowych włókien aferentnych (włókien C) poprzez ich zniszczenie dużymi dawkami kapsaicyny.
6. Ocena roli prostaglandyn poprzez selektywne i nieselektywne blokowanie COX-1 i COX-2.
7. Ustalenie wpływu wybranych leków (aspiryny, nitrogliceryny, pentoksyfiliny) lub metabolitów leków (metabolit molsydominy SIN-1) na parametry stresu oksydacyjnego w badanym modelu.

Wyniki tych badań mogą być przydatne do pełniejszego zrozumienia mechanizmów działań ubocznych leków na błonę śluzową żołądka w warunkach stresowych.



## 3. METODYKA BADAŃ

### 3.1. Dane ogólne

Badania przeprowadzono w modelu *in vivo* na szczurach białych, samcach, rasy Wistar, o masie ciała 200–250 gramów. Do doświadczeń użyto 400 szczurów, dobierając osobniki zdrowe, dobrze odżywione i przystosowane do życia w warunkach laboratoryjnych. Zwierzęta zostały pozbawione pokarmu na okres 24 godzin przed rozpoczęciem badań. W tym celu umieszczono je w indywidualnych klatkach, z zachowaniem swobodnego dostępu do wody.

### 3.2. Wywoływanie stresowych uszkodzeń błony śluzowej żołądka

Uszkodzenia błony śluzowej żołądka wywoływano metodą stresu wodnego z unieruchomienia i oziębienia, zaproponowaną przez Takagiego i współpracowników [248]. W tym celu zwierzęta, wcześniej pozbawione pokarmu (jak opisano w podrozdziale 3.1), unieruchomiano w indywidualnych klatkach, a następnie zanurzano w wodzie o temperaturze 20°C, do poziomu wyrostka mieczykowatego mostka, na okres 3,5 godziny (210 minut). Dla procedury tej przyjęto skrót WRS (*Water immersion* – zanurzenie w wodzie, *Restraint* – unieruchomienie, *Stress*).

W zależności od przynależności zwierząt do badanej grupy (podrozdział 3.8) na 30 minut przed rozpoczęciem procedury 3,5-godzinnego termicznego stresu wodnego (WRS) podawano zwierzętom odpowiednie substancje chemiczne (badane preparaty).

### 3.3. Inaktywacja aferentnych włókien czuciowych przez wysokie dawki kapsaicyny

U części badanych szczurów dokonano odnerwienia kapsaicynowego, czyli zniszczenia aferentnych włókien czuciowych (włókien C), przez podanie kapsaicyny w wysokich dawkach. W tym celu podawano podskórną kapsaicynę (8-metyl-N-wanilyl-trans-6-

-nonenamid, Fluka, Buchs, Szwajcaria) przez 3 kolejne dni, na 2 tygodnie przed rozpoczęciem zasadniczych eksperymentów w modelu WRS. W pierwszym dniu podano kapsaicynę w dawce 25 mg/kg masy ciała, w drugim dniu w dawce 50 mg/kg m.c. W trzecim dniu ilość podanej kapsaicyny wynosiła również 50 mg/kg. Sumaryczna dawka kapsaicyny, podana w ciągu 3 dni, osiągnęła wartość 125 mg/kg m.c. Podskórne podawanie kapsaicyny odbywało się w znieczuleniu eterowym w celu zapobieżenia reakcjom bólowym związanym z zastosowaniem tej substancji [58, 185].

### 3.4. Ocena żołądkowego przepływu krwi oraz liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka

Po zakończeniu 3,5-godzinnego WRS dokonywano pomiarów żołądkowego przepływu krwi oraz liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka.

Do pomiarów przepływu krwi w błonie śluzowej żołądka używano przepływomierza laserowego (Laserflowmeter, model BPM, Vasamedics, St Paul, Minnesota, USA). Zwierzętom znieczulonym pentobarbitem (Vetbutal, Biowet, Puławy, Polska) podanym dootrzewnowo w dawce 50 mg/kg m.c., otwierano jamę brzuszną i wydobywano żołądek. Do części trzonowej żołądka, od strony błony surowiczej, przykładano sondę światłowodową przepływomierza i dokonywano trzech pomiarów w różnych punktach na powierzchni ściany przedniej i tylnej żołądka. Za wartość przepływu w błonie śluzowej żołądka badanego szczura uznawano średnią arytmetyczną tych trzech pomiarów. Jednostką pomiaru był mililitr na minutę na sto gramów tkanki (ml/min/100 g) [187].

Aby dokonać pomiaru liczby uszkodzeń błony śluzowej, rozcinano żołądek wzdłuż krzywizny większej, przepłukiwano solą fizjologiczną, a następnie mierzono uszkodzenia metodą planimetryczną, wykorzystując planimetr (Morphomat, Carl Zeiss, Berlin, Niemcy) [188].

### 3.5. Produkty peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE)

W poszczególnych grupach zwierząt dokonano pomiaru tworzenia produktów peroksydacji lipidów poprzez oznaczenie dialdehydu malonowego (MDA) i 4-hydroksynoneanu (4-HNE). W tym celu pobierano około 300 miligramów ( $300 \pm 50$  mg) śluzówki z każdego żołądka, dodając 20 mikrolitrów 0,5-molowego roztworu BHT (3,5-diizobutylo-4-hydroksytoluen; Sigma Co., St Louis, USA) w celu zatrzymania procesu peroksydacji lipidów. Tkanek żołądkową homogenizowano następnie przez 15 sekund w buforze zawierającym 20 mmol/l Tris (2-amino-2-hydroksymetyl-1, 3-propanodiol; Fluka, Buchs, Szwajcaria), doprowadzonym do pH 7,4, przy użyciu homogenizatora (Ultra-Turrax, Ika-Labortechnik, Staufen, RFN). Następnie homogenaty odwirowano

z prędkością 13 000 obrotów na minutę, przez 10 minut, w temperaturze 4°C (wirówka Biofuge Fresco, Heraeus, Hanau, RFN). Uzyskany klarowny supernatant przechowywano w temperaturze -80°C do chwili wykonania oznaczeń.

Pomiaru MDA i 4-HNE dokonano metodą kolorymetryczną, wykorzystując zjawisko powstawania substancji barwnej z MDA i 4-HNE po reakcji z N-metyl-2-fenylindolem, przy użyciu zestawu Bioxytech LPO-586 (Oxis, Portland, USA). Stężenie MDA i 4-HNE oznaczano metodą kolorymetryczną, stosując spektrofotometr Marcel s 330 (Warszawa, Polska), przy długości fali 586 nanometrów, wobec ślepej odczynnikowej. Wyniki wyrażano w nanomolach na gram tkanki (nmol/g) [187, 188, 191].

### 3.6. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD)

W celu oznaczenia aktywności SOD pobierano próbki śluzówki żołądka w sposób opisany powyżej (podrozdział 3.5). Pomiaru aktywności SOD dokonano metodą kolorymetryczną, wykorzystując zjawisko autooksydacji tetrahydrotrihydroksybenzofluorenu w środowisku alkalicznym. Użyto zestawu Bioxytech SOD-525 (Oxis, Portland, USA). Aktywność SOD oznaczano, stosując spektrofotometr Marcel s 330 (Warszawa, Polska), przy długości fali 525 nanometrów, wobec ślepej odczynnikowej. Wyniki wyrażano w jednostkach aktywności enzymu na gram tkanki (U/g). Jedna jednostka (U) SOD to taka aktywność enzymu, która podwaja szybkość reakcji dysmutacji w porównaniu z szybkością reakcji spontanicznej, niekatalizowanej [182, 184–186, 191].

### 3.7. Pomiar stężenia zredukowanego glutationu (GSH)

W homogenatach tkankowych błony śluzowej żołądka, przygotowanych w sposób opisany w podrozdziale 3.5, mierzono także poziom GSH. W tym celu próbki zostały poddane działaniu odczynnika strącającego białko – 5% wodnego roztworu kwasu metafosforowego (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, RFN). Stężenie GSH oznaczano spektrofotometrycznie przy długości fali 400 nanometrów, wobec ślepej odczynnikowej (spektrofotometr Marcel s 330, Warszawa, Polska), używając zestawu Bioxytech GSH-400 (Oxis, Portland, USA). Metoda ta bazuje na reakcji GSH z metylosiarczanem 4-chloro-1-metylo-7-trifluorometylocholinoliny z wytworzeniem tioeterów, ulegających rozpadowi w środowisku alkalicznym. Wyniki przedstawiano w mikromolach na gram tkanki ( $\mu\text{mol/g}$ ) [184, 188].



### 3.8. Doświadczalne grupy zwierząt

Zwierzęta podzielono na następujące grupy doświadczalne:

1. Grupa zdrowych szczurów niepoddanych żadnym zabiegom.
2. Grupa zwierząt poddanych 3,5-godzinnemu stresowi wodnemu (WRS; dokładny opis w podrozdziale 3.2), którym 30 minut wcześniej podano placebo, czyli sól fizjologiczną (0,9% NaCl), dootrzewnowo (*intraperitoneally* – *i.p.*) lub dożołądkowo (*intragastrically* – *i.g.*).
3. Grupa zwierząt poddanych WRS (3,5-godzinnemu stresowi wodnemu), składająca się z 4 podgrup, którym wcześniej podano *i.g.* SIN-1 (3-morfolinylodysydnonimina, Cayman, Chemical, Ann Arbor, USA) we wzrastających dawkach:
  - a) SIN-1 w dawce 1 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - b) SIN-1 w dawce 2,5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - c) SIN-1 w dawce 5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - d) SIN-1 w dawce 10 mg/kg (*i.g.*) + WRS.
4. Grupa zwierząt poddanych procedurze WRS, składająca się z 4 podgrup, którym wcześniej podano *i.g.* SNAP (S-nitrozo-N-acetyl-D,L-penicylamina, Cayman, Chemical, Ann Arbor, USA) we wzrastających dawkach:
  - a) SNAP 1 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - b) SNAP 2,5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - c) SNAP 5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - d) SNAP 10 mg/kg (*i.g.*) + WRS.
5. Grupa zwierząt poddanych WRS (złożona z 4 podgrup), którym wcześniej podano *i.g.* nitroglicerynę (Polfa, Warszawa, Polska) we wzrastających dawkach:
  - a) nitrogliceryna 2,5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - b) nitrogliceryna 5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - c) nitrogliceryna 10 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - d) nitrogliceryna 20 mg/kg (*i.g.*) + WRS.
6. Grupa zwierząt poddanych WRS (4 podgrupy), którym wcześniej podano *i.g.* NO-aspirynę (NO-ASA, ester nitroksybutylowy kwasu acetylosalicylowego, NicOX, Paryż, Francja) we wzrastających dawkach:
  - a) NO-ASA 10 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - b) NO-ASA 20 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - c) NO-ASA 40 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - d) NO-ASA 80 mg/kg (*i.g.*) + WRS.
7. Grupa zwierząt poddanych WRS (podzielona na 4 podgrupy), którym wcześniej podano *i.g.* aspirynę (ASA, kwas acetylosalicylowy, Bayer, Leverkusen, Niemcy) we wzrastających dawkach:
  - a) ASA 10 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - b) ASA 20 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - c) ASA 40 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - d) ASA 80 mg/kg (*i.g.*) + WRS.

8. Grupa zwierząt poddanych WRS (4 podgrupy), którym wcześniej podano *i.p.* pentoksyfilinę (PTX, 1-(5-oksoheksylo)-teobromina, Albert – Roussel Pharma GmbH, Wiesbaden, Niemcy) we wzrastających dawkach:
  - a) PTX 2,5 mg/kg (*i.p.*) + WRS;
  - b) PTX 5 mg/kg (*i.p.*) + WRS;
  - c) PTX 10 mg/kg (*i.p.*) + WRS;
  - d) PTX 20 mg/kg (*i.p.*) + WRS.
9. Grupa zwierząt poddanych WRS (4 podgrupy), którym wcześniej podano *i.g.* SC-560 (5-(4-chlorofenylo)-1-(4-metoksyfenylo)-3-(trifluorometylo)-1H-pirazol), Cayman, Chemical, Ann Arbor, USA) we wzrastających dawkach:
  - a) SC-560 w dawce 1 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - b) SC-560 w dawce 2,5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - c) SC-560 w dawce 5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - d) SC-560 w dawce 10 mg/kg (*i.g.*) + WRS.
10. Grupa zwierząt poddanych WRS (podzielona na 4 podgrupy), którym wcześniej podano *i.g.* rofekoksyb (Vioxx, Merck, Glattbrugg, Szwajcaria) we wzrastających dawkach:
  - a) rofekoksyb 2,5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - b) rofekoksyb 5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - c) rofekoksyb 10 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - d) rofekoksyb 20 mg/kg (*i.g.*) + WRS.
11. Grupa zwierząt poddanych WRS, podzielona na 4 podgrupy, którym wcześniej podano *i.g.* resveratrol (5-hydroksy-2-fenylo-4-etenylo-1,3-benzenediol, Cayman, Chemical, Ann Arbor, USA) we wzrastających dawkach:
  - a) resveratrol 2,5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - b) resveratrol 5 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - c) resveratrol 10 mg/kg (*i.g.*) + WRS;
  - d) resveratrol 20 mg/kg (*i.g.*) + WRS.
12. Grupa zwierząt, którym podano SIN-1 w dawce 5 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana 30 minut później WRS (SIN-1 w dawce 5 mg/kg *i.g.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (SIN-1 w dawce 5 mg/kg *i.g.* bez WRS).
13. Grupa zwierząt, którym podano SNAP w dawce 5 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana 30 minut później WRS (SNAP 5 mg/kg *i.g.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (SNAP 5 mg/kg *i.g.* bez WRS).
14. Grupa zwierząt, którym podano nitroglicerynę w dawce 10 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana 30 minut później WRS (nitrogliceryna 10 mg/kg *i.g.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (nitrogliceryna 10 mg/kg *i.g.* bez WRS).

15. Grupa zwierząt, którym podano NO-aspirynę (NO-ASA) w dawce 40 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana 30 minut później WRS (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.* bez WRS).
16. Grupa zwierząt, którym podano aspirynę (ASA) w dawce 40 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana 30 minut później WRS (ASA 40 mg/kg *i.g.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (ASA 40 mg/kg *i.g.* bez WRS).
17. Grupa zwierząt, którym podano pentoksyfilinę (PTX) w dawce 10 mg/kg (*i.p.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana 30 minut później WRS (PTX 10 mg/kg *i.p.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (PTX 10 mg/kg *i.p.* bez WRS).
18. Grupa zwierząt, którym podano SC-560 w dawce 5 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana 30 minut później WRS (SC-560 w dawce 5 mg/kg *i.g.*+ WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (SC-560 w dawce 5 mg/kg *i.g.* bez WRS).
19. Grupa zwierząt, którym podano rofekoksyb w dawce 10 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana 30 minut później WRS (rofekoksyb 10 mg/kg *i.g.*+ WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (rofekoksyb 10 mg/kg *i.g.* bez WRS).
20. Grupa zwierząt, którym podano resveratrol w dawce 10 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana 30 minut później WRS (resveratrol 10 mg/kg *i.g.*+ WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (resveratrol 10 mg/kg *i.g.* bez WRS).
21. Grupa zwierząt, którym podano nitroglicerynę (NTG) w dawce 10 mg/kg (*i.g.*), a następnie (po upływie 30 minut) aspirynę (ASA) w dawce 40 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana później WRS (NTG 10 mg/kg *i.g.*+ ASA 40 mg/kg *i.g.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (NTG 10 mg/kg *i.g.*+ ASA 40 mg/kg *i.g.* bez WRS).
22. Grupa zwierząt, którym podano L-NNA (N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina, Sigma Co., St Louis, USA) w dawce 20 mg/kg (*i.p.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana później WRS (L-NNA 20 mg/kg *i.p.*+ WRS);

- b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (L-NNA 20 mg/kg *i.p.* bez WRS).
23. Grupa zwierząt, którym podano L-argininę (Fluka, Buchs, Szwajcaria) w dawce 50 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
- a) podgrupa poddana później WRS (L-arginina 50 mg/kg *i.g.*+ WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (L-arginina 50 mg/kg *i.g.* bez WRS).
24. Grupa zwierząt, którym podano L-argininę w dawce 50 mg/kg (*i.g.*), a następnie L-NNA w dawce 20 mg/kg (*i.p.*), podzielona na 2 podgrupy:
- a) podgrupa poddana później WRS (L-arginina 50 mg/kg *i.g.*+ L-NNA 20 mg/kg *i.p.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (L-arginina 50 mg/kg *i.g.*+ L-NNA 20 mg/kg *i.p.* bez WRS).
25. Grupa zwierząt, którym podano L-NNA w dawce 20 mg/kg (*i.p.*), a następnie pentoksyfilinę (PTX) w dawce 10 mg/kg (*i.p.*), podzielona na 2 podgrupy:
- a) podgrupa poddana później WRS (L-NNA 20 mg/kg *i.p.*+ PTX 10 mg/kg *i.p.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (L-NNA 20 mg/kg *i.p.*+ PTX 10 mg/kg *i.p.* bez WRS).
26. Grupa zwierząt, którym podano L-argininę w dawce 50 mg/kg (*i.g.*), a następnie (kolejno w odstępach półgodzinnych) L-NNA w dawce 20 mg/kg (*i.p.*) i pentoksyfilinę (PTX) w dawce 10 mg/kg (*i.p.*), podzielona na 2 podgrupy:
- a) podgrupa poddana później WRS (L-arginina 50 mg/kg *i.g.*+ L-NNA 20 mg/kg *i.p.* + PTX 10 mg/kg *i.p.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (L-arginina 50 mg/kg *i.g.*+ L-NNA 20 mg/kg *i.p.* + PTX 10 mg/kg *i.p.* bez WRS).
27. Grupa zwierząt, u których wykonano odnerwienie kapsaicynowe (procedura opisana w podrozdziale 3.3), podzielona na 2 podgrupy:
- a) podgrupa poddana później WRS (odnerwienie kapsaicynowe + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (odnerwienie kapsaicynowe bez WRS).
28. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym zaaplikowano CGRP (peptyd pochodny genu kalcytoniny, Sigma Co., St Louis, USA) w dawce 10 µg/kg (*i.p.*), a następnie poddano WRS (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP 10 µg/kg *i.p.* + WRS).
29. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano aspirynę (ASA) w dawce 40 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
- a) podgrupa poddana później WRS (odnerwienie kapsaicynowe + ASA 40 mg/kg *i.g.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (odnerwienie kapsaicynowe + ASA 40 mg/kg *i.g.* bez WRS).
30. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano kolejno (w odstępach półgodzinnych) CGRP w dawce 10 µg/kg (*i.p.*) i aspirynę (ASA) w dawce 40 mg/kg (*i.g.*), a następnie poddano WRS (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP 10 µg/kg *i.p.* + ASA 40 mg/kg *i.g.* + WRS).

31. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano SC-560 w dawce 5 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana później WRS (odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 w dawce 5 mg/kg *i.g.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 w dawce 5 mg/kg *i.g.* bez WRS).
32. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano kolejno: CGRP w dawce 10 µg/kg (*i.p.*) i SC-560 w dawce 5 mg/kg (*i.g.*), a następnie poddano WRS (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP 10 µg/kg *i.p.* + SC-560 w dawce 5 mg/kg *i.g.* + WRS).
33. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano resveratrol w dawce 10 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana później WRS (odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol 10 mg/kg *i.g.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol 10 mg/kg *i.g.* bez WRS).
34. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano kolejno: CGRP w dawce 10 µg/kg (*i.p.*) i resveratrol w dawce 10 mg/kg (*i.g.*), a następnie poddano WRS (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP 10 µg/kg *i.p.* + resveratrol 10 mg/kg *i.g.* + WRS).
35. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano rofekoksyb w dawce 10 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana później WRS (odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb 10 mg/kg *i.g.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb 10 mg/kg *i.g.* bez WRS).
36. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano kolejno: CGRP w dawce 10 µg/kg (*i.p.*) i rofekoksyb w dawce 10 mg/kg (*i.g.*), a następnie poddano WRS (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP 10 µg/kg *i.p.* + rofekoksyb 10 mg/kg *i.g.* + WRS).
37. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano pentoksyfilinę (PTX) w dawce 10 mg/kg (*i.p.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana później WRS (odnerwienie kapsaicynowe + PTX 10 mg/kg *i.p.* + WRS);
  - b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (odnerwienie kapsaicynowe + PTX 10 mg/kg *i.p.* bez WRS).
38. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano kolejno: CGRP w dawce 10 µg/kg (*i.p.*) i PTX w dawce 10 mg/kg (*i.p.*), a następnie poddano WRS (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP 10 µg/kg *i.p.* + PTX 10 mg/kg *i.p.* + WRS).
39. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano kolejno: pentoksyfilinę (PTX) w dawce 10 mg/kg (*i.p.*) i aspirynę (ASA) w dawce 40 mg/kg (*i.g.*), podzielona na 2 podgrupy:
  - a) podgrupa poddana później WRS (odnerwienie kapsaicynowe + PTX 10 mg/kg *i.p.* + ASA 40 mg/kg *i.g.* + WRS);

- b) podgrupa niepoddana później żadnym zabiegom (odnerwienie kapsaicynowe + PTX 10 mg/kg *i.p.* + ASA 40 mg/kg *i.g.* bez WRS).
40. Grupa zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, którym podano CGRP w dawce 10 µg/kg (*i.p.*), a następnie (kolejno w odstępach półgodzinnych) PTX w dawce 10 mg/kg (*i.p.*), poddana później WRS (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP 10 µg/kg *i.p.* + PTX 10 mg/kg *i.p.* + ASA 40 mg/kg *i.g.* + WRS).

### 3.9. Analiza statystyczna wyników

Wyniki badań we wszystkich typach doświadczeń poddano analizie statystycznej przy użyciu nieparametrycznego testu Manna-Whitneya (test U). Za statystycznie znamienne przyjęto te różnice, dla których poziom istotności był mniejszy od 0,05 ( $p < 0,05$ ). Wyniki wyrażano jako średnie arytmetyczne  $\pm$  standardowe błędy średnich (SEM).



## 4. WYNIKI

### 4.1. Ocena uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowego przepływu krwi

Tabela I przedstawia wpływ wzrastających dawek SIN-1, podawanych *i.g.*, na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na żołądkowy przepływ krwi w modelu stresowym (WRS). SIN-1 w dawce 1 mg/kg nie powodował statystycznie istotnej zmiany średniej liczby uszkodzeń ani wartości żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymywały placebo (0,9% NaCl *i.g.*). Statystycznie znamienne spadki liczby uszkodzeń i wzrost żołądkowego przepływu krwi był obserwowany przy wartości 2,5 mg/kg, ale dopiero dawka 5 mg/kg prowadziła do redukcji liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka o około 70%. Poziomą redukcję nie zwiększał się w sposób istotny przy dalszym wzroście dawki. Dlatego 5 mg/kg zostało wybrane jako dawka o działaniu ochronnym, gastroprotektoryjnym, w modelu WRS.

**Tabela I.** Wpływ wzrastających dawek SIN-1, podawanych dożołądkowo (*i.g.*), na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowy przepływ krwi (wyrażony jako % przepływu w zdrowej błonie śluzowej żołądka) w modelu 3,5-godzinnej stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	Średnia liczba uszkodzeń	Żołądkowy przepływ krwi
Placebo + WRS	24 ± 1,5	60 ± 2%
SIN-1 1 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	22,5 ± 3	63 ± 4%
SIN-1 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15 ± 6*	76 ± 5%*
<b>SIN-1 5 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	7 ± 1*	90 ± 3%*
SIN-1 10 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	6 ± 2*	93 ± 4%*

\* statystycznie znamienne zmniejszenie średniej liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka lub statystycznie istotne zwiększenie żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Tabela II przedstawia wpływ wzrastających dawek SNAP, podawanych *i.g.*, na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na żołądkowy przepływ krwi w modelu stresowym (WRS). SNAP w dawce 1 mg/kg nie powodował statystycznie istotnej zmiany średniej liczby uszkodzeń ani wartości żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymywały placebo (0,9% NaCl *i.g.*). Statystycznie znamienne spadki liczby uszkodzeń i wzrost żołądkowego przepływu krwi



był obserwowany przy wartości 2,5 mg/kg, ale dopiero dawka 5 mg/kg prowadziła do redukcji liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka o około 60%. Poziom redukcji nie zwiększał się w sposób istotny przy dalszym wzroście dawki. Dlatego 5 mg/kg zostało wybrane jako dawka o działaniu ochronnym, gastroprotekcijnym, w modelu WRS.

**Tabela II.** Wpływ wzrastających dawek SNAP, podawanych dożołądkowo (*i.g.*), na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowy przepływ krwi (wyrażony jako % przepływu w zdrowej błonie śluzowej żołądka) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	Średnia liczba uszkodzeń	Żołądkowy przepływ krwi
Placebo + WRS	24 ± 1,5	60 ± 2%
SNAP 1 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	23 ± 4	64 ± 2%
SNAP 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	16 ± 2,5*	71 ± 3%*
<b>SNAP 5 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	10 ± 1*	89 ± 2%*
SNAP 10 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	9 ± 5*	91 ± 3,5%*

\* statystycznie znamienne zmniejszenie średniej liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka lub statystycznie istotne zwiększenie żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Tabela III przedstawia wpływ wzrastających dawek nitrogliceryny, podawanych *i.g.*, na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na żołądkowy przepływ krwi w modelu stresowym (WRS). Nitrogliceryna w dawkach 2,5 mg/kg i 5 mg/kg nie powodowała statystycznie istotnej zmiany średniej liczby uszkodzeń ani wartości żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymywały placebo (0,9% NaCl *i.g.*). Statystycznie znamienne spadek liczby uszkodzeń i wzrost żołądkowego przepływu krwi był obserwowany przy wartości 10 mg/kg. Dalszy wzrost dawki nitrogliceryny nie powodował statystycznie istotnych zmian liczby uszkodzeń ani żołądkowego przepływu krwi. Dlatego 10 mg/kg zostało wybrane jako dawka o działaniu ochronnym, gastroprotekcijnym, w modelu WRS.

**Tabela III.** Wpływ wzrastających dawek nitrogliceryny (NTG), podawanych dożołądkowo (*i.g.*), na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowy przepływ krwi (wyrażony jako % przepływu w zdrowej błonie śluzowej żołądka) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	Średnia liczba uszkodzeń	Żołądkowy przepływ krwi
Placebo + WRS	24 ± 1,5	60 ± 2%
NTG 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	21 ± 4	66 ± 3%
NTG 5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	19,5 ± 5	69 ± 4%
<b>NTG 10 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	14 ± 1*	86 ± 1%*
NTG 20 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	13 ± 2*	87 ± 3%*

\* statystycznie znamienne zmniejszenie średniej liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka lub statystycznie istotne zwiększenie żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Rycina 3 przedstawia wpływ donorów NO, takich jak SIN-1 (5 mg/kg *i.g.*), SNAP (5 mg/kg *i.g.*) i nitrogliceryna (NTG 10 mg/kg *i.g.*), na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na wartość żołądkowego przepływu krwi.

Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS. Stwierdza się, że podanie SIN-1 lub SNAP albo NTG, w wymienionych dawkach, na zdrową błonę śluzową żołądka nie powoduje powstawania uszkodzeń, ewentualnie występują pojedyncze uszkodzenia, których liczba nie różni się w sposób statystycznie istotny od rezultatów podania placebo (0,9% NaCl). Liczne uszkodzenia były obserwowane dopiero po zastosowaniu procedury WRS. Wyniki te wskazują, że SIN-1, SNAP i NTG, w podanych dawkach, nie wykazują działania uszkadzającego na zdrową błonę śluzową żołądka.

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących wymienione preparaty na zdrową błonę śluzową żołądka (SIN-1 bez WRS, SNAP bez WRS, NTG bez WRS). Natomiast wykazano statystycznie znamienne różnice w odniesieniu do grupy zwierząt, która otrzymała placebo (0,9% NaCl) i została poddana WRS (placebo + WRS), jak również w stosunku do grup: SIN-1 + WRS, SNAP + WRS, NTG + WRS.

Do określenia ochronnego, gastroprotekcijnego, działania podawanych donorów NO w modelu stresowym (WRS) przyjęto za punkt odniesienia grupę zwierząt poddanych WRS, która otrzymała 30 minut wcześniej 0,9% NaCl (placebo + WRS). Stwierdzono statystycznie znamiennej redukcję liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka w odniesieniu do grup zwierząt, którym podano SIN-1 w dawce 5 mg/kg, SNAP w dawce 5 mg/kg, NTG w dawce 10 mg/kg przed rozpoczęciem WRS (SIN-1 + WRS, SNAP + WRS, NTG + WRS).

Na rycinie 3 przedstawiono także wartości żołądkowego przepływu krwi. Przepływ krwi w zdrowej błonie śluzowej żołądka (placebo bez WRS) wynosi  $42 \pm 3$  ml/min/100 g tkanki. Wartość ta została przyjęta jako punkt odniesienia – 100%. Poddanie zwierząt stresowi (placebo + WRS) powodowało statystycznie znamiennej redukcję żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z przepływem krwi w zdrowej błonie śluzowej (placebo bez WRS). Podanie na 30 minut przed WRS wymienionych preparatów (SIN-1 + WRS, SNAP + WRS, NTG + WRS) powodowało statystycznie istotny wzrost żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą zwierząt, którym przed WRS podano 0,9% NaCl (placebo + WRS).

Wyniki przedstawione na rycinie 3 wskazują, że poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje powstanie licznych uszkodzeń błony śluzowej żołądka, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi. Zastosowanie SIN-1 (5 mg/kg *i.g.*), SNAP (5 mg/kg *i.g.*) lub NTG (10 mg/kg *i.g.*), przed rozpoczęciem WRS, prowadziło do redukcji liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka, z towarzyszącym wzrostem żołądkowego przepływu krwi.

Tabela IV przedstawia wpływ wzrastających dawek NO-aspiryny, podawanych *i.g.*, na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na żołądkowy przepływ krwi w modelu stresowym (WRS). NO-aspiryna w dawkach 10 mg/kg i 20 mg/kg nie powodowała statystycznie istotnej zmiany średniej liczby uszkodzeń ani wartości żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymywały placebo (0,9% NaCl *i.g.*). Statystycznie znamienne spadek liczby uszkodzeń i wzrost żołądkowego przepływu krwi był obserwowany przy wartości 40 mg/kg. Dalszy wzrost dawki NO-aspiryny nie powodował statystycznie istotnych zmian liczby uszkodzeń ani

żołądkowego przepływu krwi. Dlatego 40 mg/kg zostało wybrane jako dawka o działaniu ochronnym, gastroprotekcynym, w modelu WRS.

**Tabela IV.** Wpływ wzrastających dawek NO-aspiryny (NO-ASA), podawanych dożołądkowo (*i.g.*), na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowy przepływ krwi (wyrażony jako % przepływu w zdrowej błonie śluzowej żołądka) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	Średnia liczba uszkodzeń	Żołądkowy przepływ krwi
Placebo + WRS	24 ± 1,5	60 ± 2%
NO-ASA 10 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	22 ± 4	59 ± 5%
NO-ASA 20 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	18 ± 5	64 ± 4%
<b>NO-ASA 40 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	14 ± 2*	85 ± 3%*
NO-ASA 80 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	10 ± 2*	87 ± 3,5%*

\* statystycznie znamienne zmniejszenie średniej liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka lub statystycznie istotny wzrost żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Tabela V przedstawia wpływ wzrastających dawek aspiryny, podawanych *i.g.*, na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na żołądkowy przepływ krwi w modelu stresowym (WRS). Aspiryna w dawkach 10 mg/kg i 20 mg/kg nie powodowała statystycznie istotnej zmiany średniej liczby uszkodzeń ani wartości żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymywały placebo (0,9% NaCl *i.g.*). Statystycznie znamienne wzrost liczby uszkodzeń, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi, był obserwowany przy wartości 40 mg/kg. Dalszy wzrost dawki aspiryny nie powodował statystycznie istotnych zmian liczby uszkodzeń ani żołądkowego przepływu krwi. Dlatego 40 mg/kg zostało wybrane jako dawka o działaniu uszkadzającym, gastrotoksycznym, w modelu WRS.

**Tabela V.** Wpływ wzrastających dawek aspiryny (ASA), podawanych dożołądkowo (*i.g.*), na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowy przepływ krwi (wyrażony jako % przepływu w zdrowej błonie śluzowej żołądka) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	Średnia liczba uszkodzeń	Żołądkowy przepływ krwi
Placebo + WRS	24 ± 1,5	60 ± 2%
ASA 10 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	25 ± 3	59 ± 2%
ASA 20 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	26 ± 2	57 ± 4%
<b>ASA 40 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	29 ± 2*	50 ± 3%*
ASA 80 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	30 ± 4*	52 ± 4%*

\* statystycznie znamienne zwiększenie średniej liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka lub statystycznie istotne zmniejszenie żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Rycina 4 przedstawia wpływ aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), NO-aspiryny (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji 2 preparatów: nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg *i.g.*) z aspiryną (ASA 40 mg/kg *i.g.*) na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na wartość żołądkowego przepływu krwi. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS. Stwierdzono, iż podanie NO-ASA lub kombinacji NTG z ASA, w wymienionych dawkach, na zdrową

blonę śluzową żołądka, nie powoduje powstawania uszkodzeń albo występują pojedyncze uszkodzenia, których liczba nie różni się w sposób statystycznie istotny od rezultatów podania placebo (0,9% NaCl). Liczne uszkodzenia obserwowane były dopiero po zastosowaniu procedury WRS. Jedynie w przypadku zastosowania ASA (40 mg/kg *i.g.*), na zdrową błonę śluzową, stwierdza się niewielką liczbę uszkodzeń ( $5 \pm 1$ ), która jednakże jest znamienne wyższa niż po zastosowaniu placebo. Dopiero jednak użycie ASA (40 mg/kg *i.g.*) w modelu WRS powoduje powstanie bardzo licznych uszkodzeń błony śluzowej żołądka ( $29 \pm 2$ ).

Wyniki te wskazują, że NO-ASA i kombinacja NTG + ASA, w podanych dawkach, nie wykazują działania wrzodotwórczego na zdrową błonę śluzową żołądka. Natomiast ASA, w dawce 40 mg/kg *i.g.*, wykazuje słabe działanie uszkadzające na błonę śluzową żołądka. Działanie to jest jednakże prawie pięciokrotnie słabsze niż w przypadku działania stresu (placebo + WRS; średnia liczba uszkodzeń:  $24 \pm 1,5$ ).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących wymienione preparaty na zdrową błonę śluzową żołądka (NO-ASA bez WRS, NTG + ASA bez WRS), z wyjątkiem grupy otrzymującej ASA.

Natomiast wykazano statystycznie znamienne różnice w odniesieniu do grupy zwierząt, która otrzymała placebo (0,9% NaCl) i została poddana WRS (placebo + WRS), jak również w stosunku do grup: ASA + WRS, NO-ASA + WRS, NTG + ASA + WRS.

Do określenia ewentualnego ochronnego (gastroprotekcijnego) bądź uszkadzającego (gastrotoksycznego) działania podawanych preparatów w modelu stresowym (WRS) przyjęto za punkt odniesienia grupę zwierząt poddanych WRS, która otrzymała 30 minut wcześniej 0,9% NaCl (placebo + WRS). Stwierdzono statystycznie znamiennej redukcję liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka w odniesieniu do grup zwierząt, którym podano NO-ASA w dawce 40 mg/kg *i.g.* lub kombinację: NTG w dawce 10 mg/kg z ASA w dawce 40 mg/kg (NO-ASA + WRS, NTG + ASA + WRS). Natomiast w przypadku zastosowania ASA w dawce 40 mg/kg (ASA + WRS) obserwuje się statystycznie istotny wzrost liczby uszkodzeń.

Na rycinie 4 przedstawiono także wartości żołądkowego przepływu krwi. Wartość przepływu krwi w zdrowej błonie śluzowej żołądka została przyjęta jako 100% (punkt odniesienia). Poddanie zwierząt stresowi (placebo + WRS) powodowało statystycznie znamiennej redukcję żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z przepływem krwi w zdrowej błonie śluzowej (placebo bez WRS). Podanie (30 minut przed WRS) NO-aspiryny lub nitrogliceryny wraz z aspiryną (NO-ASA + WRS, NTG + ASA + WRS) powodowało statystycznie istotny wzrost żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą zwierząt, którym przed WRS podano 0,9% NaCl (placebo + WRS). W przypadku zaaplikowania aspiryny przed stresem (ASA + WRS) obserwuje się statystycznie znamiennej redukcję żołądkowego przepływu krwi.

Wyniki przedstawione na rycinie 4 wskazują, że poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje powstanie licznych uszkodzeń błony śluzowej żołądka, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi. Zastosowanie NO-ASA (40 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji NTG (10 mg/kg *i.g.*) i ASA (40 mg/kg *i.g.*), przed rozpoczęciem WRS, powodowało redukcję liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka z towarzyszącym wzro-

stem żołądkowego przepływu krwi. NO-ASA + WRS, w porównaniu z kombinacją NTG + ASA + WRS, powodowało większą redukcję liczby uszkodzeń i wzrost żołądkowego przepływu krwi. Natomiast zastosowanie ASA (40 mg/kg *i.g.*), przed rozpoczęciem WRS, prowadziło do wzrostu liczby uszkodzeń i zmniejszenia żołądkowego przepływu krwi.

Tabela VI przedstawia wpływ wzrastających dawek pentoksyfiliny, podawanych *i.p.*, na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na żołądkowy przepływ krwi w modelu stresowym (WRS). Pentoksyfilina w dawkach 2,5 mg/kg i 5 mg/kg nie powodowała statystycznie istotnej zmiany średniej liczby uszkodzeń ani wartości żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymywały placebo (0,9% NaCl *i.p.*). Statystycznie znamiennej redukcja liczby uszkodzeń była obserwowana przy dawce 10 mg/kg. Dalszy wzrost dawki pentoksyfiliny nie powodował statystycznie istotnych zmian liczby uszkodzeń ani żołądkowego przepływu krwi. Dlatego 10 mg/kg zostało wybrane jako dawka o działaniu ochronnym (gastroprotektynym) w modelu WRS.

**Tabela VI.** Wpływ wzrastających dawek pentoksyfiliny (PTX), podawanych dootrzewnowo (*i.p.*), na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowy przepływ krwi (wyrażony jako % przepływu w zdrowej błonie śluzowej żołądka) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	Średnia liczba uszkodzeń	Żołądkowy przepływ krwi
Placebo + WRS	24 ± 1,5	60 ± 2%
PTX 2,5 mg/kg ( <i>i.p.</i> ) + WRS	21 ± 3	62 ± 1%
PTX 5 mg/kg ( <i>i.p.</i> ) + WRS	17 ± 1,2	70 ± 4%
<b>PTX 10 mg/kg (<i>i.p.</i>) + WRS</b>	10,5 ± 1,5*	88 ± 1%*
PTX 20 mg/kg ( <i>i.p.</i> ) + WRS	9,5 ± 4*	90 ± 2%*

\* statystycznie znamienne zmniejszenie średniej liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka lub statystycznie istotne zwiększenie żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Rycina 5 przedstawia wpływ pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*), kombinacji 2 preparatów: L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) z pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), jak również sekwencji 3 substancji: L-argininy (50 mg/kg *i.g.*), L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na wartość żołądkowego przepływu krwi. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS. Wykazano, że zastosowanie PTX lub kombinacji L-NNA i PTX, jak również sekwencji preparatów: L-arginina + L-NNA + PTX, w wymienionych dawkach, na zdrową błonę śluzową żołądka, nie powoduje powstawania uszkodzeń albo występują pojedyncze uszkodzenia, których liczba nie różni się w sposób statystycznie istotny od rezultatów podania placebo (0,9% NaCl). Liczne uszkodzenia były obserwowane dopiero po zastosowaniu procedury WRS.

Opisane rezultaty wskazują, iż zastosowanie PTX samodzielnie lub w kombinacji z wymienionymi preparatami nie wykazuje działania uszkadzającego na zdrową błonę śluzową żołądka.

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących wymienione preparaty na zdrową błonę śluzową żołądka (PTX bez WRS, L-NNA + PTX bez WRS, L-arginina + L-NNA + PTX bez WRS). Natomiast wykazano statystycznie znamienne różnice w odniesieniu do grupy zwierząt, która otrzymała placebo (0,9% NaCl) i została poddana WRS (placebo + WRS), jak również w stosunku do grup: PTX + WRS, L-NNA + PTX + WRS, L-arginina + L-NNA + PTX + WRS.

Do określenia ewentualnego ochronnego (gastroprotekcijnego) bądź uszkadzającego (gastrotoksycznego) działania podawanych preparatów w modelu stresowym (WRS) przyjęto za punkt odniesienia grupę zwierząt poddanych WRS, która otrzymała wcześniej 0,9% NaCl (placebo + WRS). Stwierdzono statystycznie znamiennej redukcję liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka w odniesieniu do grup zwierząt, którym podano PTX w dawce 10 mg/kg lub kombinację L-argininy (50 mg/kg *i.g.*), L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i PTX w wyżej wymienionej dawce (PTX + WRS, L-arginina + L-NNA + PTX + WRS). Natomiast w przypadku zastosowania kombinacji L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) z PTX (10 g/kg *i.p.*) liczba uszkodzeń nie różniła się w sposób statystycznie istotny w porównaniu z grupą zwierząt poddanych stresowi (WRS), która otrzymała wcześniej placebo (placebo + WRS).

Na rycinie 5 przedstawiono także wartości żołądkowego przepływu krwi. Wartość przepływu krwi w zdrowej błonie śluzowej żołądka została przyjęta jako 100% (punkt odniesienia). Poddanie zwierząt stresowi (placebo + WRS) powodowało statystycznie znamiennej redukcję żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z przepływem krwi w zdrowej błonie śluzowej (placebo bez WRS). Podanie (30 minut przed WRS) pentoksyfiliny (PTX + WRS) lub kombinacji L-argininy, L-NNA i PTX (L-arginina + L-NNA + PTX + WRS) powodowało statystycznie istotny wzrost żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą zwierząt, którym przed WRS podano 0,9% NaCl (placebo + WRS). W przypadku zastosowania zestawu L-NNA z PTX (L-NNA + PTX + WRS) nie obserwuje się statystycznie znamienych różnic w wartości żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo + WRS.

Wyniki przedstawione na rycinie 5 wskazują, że poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje powstanie licznych uszkodzeń błony śluzowej żołądka, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi. Zastosowanie PTX (10 mg/kg *i.p.*) powodowało redukcję liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka z towarzyszącym wzrostem żołądkowego przepływu krwi. Dodanie L-NNA, w dawce 20 mg/kg *i.p.* (L-NNA + PTX + WRS), niwelowało gastroprotekcyjne działanie PTX, prowadząc do wzrostu liczby uszkodzeń i redukcji żołądkowego przepływu krwi do wartości nieróżniących się w sposób znamieny od grupy, która przed stresem otrzymała placebo (placebo + WRS). Dodatkowe użycie L-argininy w dawce 50 mg/kg *i.g.* (L-arginina + L-NNA + PTX + WRS) przywracało wartości liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi do poziomu obserwowanego w grupie otrzymującej PTX (PTX + WRS).

Rycina 6 przedstawia wpływ inhibitora NOS: L-NNA (20 mg/kg *i.p.*), substratu dla NOS: L-argininy, jak również kombinacji tych dwóch preparatów na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na wartość żołądkowego przepływu krwi. Wymie-

nione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Stwierdzono, że podanie L-NNA lub L-argininy, jak również L-argininy z L-NNA, w wymienionych dawkach, na zdrową błonę śluzową żołądka, nie powoduje powstawania uszkodzeń albo występują pojedyncze uszkodzenia, których liczba nie różni się w sposób statystycznie istotny od rezultatów podania placebo (0,9% NaCl). Liczne uszkodzenia obserwowane były dopiero po zastosowaniu procedury WRS. Wyniki te wskazują na to, iż użycie L-NNA lub L-argininy osobno, albo w kombinacji, nie wykazuje działania uszkadzającego, wrzodotwórczego.

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących wymienione preparaty na zdrową błonę śluzową żołądka (L-NNA bez WRS, L-arginina bez WRS, L-arginina + L-NNA bez WRS). Natomiast wykazano statystycznie znamienne różnice w odniesieniu do grupy zwierząt, która otrzymała placebo i została poddana WRS (placebo + WRS), jak również w stosunku do grup: L-NNA + WRS, L-arginina + WRS, L-arginina + L-NNA + WRS.

Do określenia ewentualnego ochronnego lub uszkadzającego działania podawanych preparatów w modelu stresowym (WRS) przyjęto za punkt odniesienia grupę zwierząt poddanych WRS, która otrzymała wcześniej 0,9% NaCl (placebo + WRS). Stwierdzono statystycznie znamienne wzrost liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka w grupie zwierząt, które otrzymały L-NNA w dawce 20 mg/kg *i.p.* (L-NNA + WRS).

Natomiast przy zastosowaniu L-argininy w dawce 50 mg/kg *i.g.* (L-arginina + WRS) lub zestawu wymienionych substancji (L-arginina + L-NNA + WRS) liczba uszkodzeń nie różniła się w sposób statystycznie istotny w porównaniu z grupą zwierząt poddanych stresowi (WRS), która otrzymała wcześniej placebo (placebo + WRS).

Rycina 6 przedstawia także wartości żołądkowego przepływu krwi. Wartość przepływu krwi w zdrowej błonie śluzowej żołądka została przyjęta jako 100% (punkt odniesienia). Poddanie zwierząt stresowi (placebo + WRS) powodowało statystycznie znamiennej redukcję żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z przepływem krwi w zdrowej błonie śluzowej (placebo bez WRS). Podanie (30 minut przed WRS) L-NNA (L-NNA + WRS) powodowało statystycznie znamiennej redukcję żołądkowego przepływu krwi, zaaplikowanie zaś L-argininy lub zestawu preparatów (L-arginina + WRS, L-arginina + L-NNA + WRS) nie prowadziło do statystycznie istotnych zmian w porównaniu z grupą zwierząt, którym przed WRS podano placebo (placebo + WRS).

Wyniki przedstawione na rycinie 6 wskazują, że zastosowanie L-NNA w modelu stresowym (L-NNA + WRS) powoduje wzrost liczby uszkodzeń, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą placebo + WRS. Zastosowanie L-argininy, w dawce 50 mg/kg, nie powoduje statystycznie istotnego zmniejszenia liczby uszkodzeń ani też wzrostu żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo + WRS. Zmniejszenie liczby uszkodzeń (gastroprotekcja) jest obserwowane, gdy L-arginina zostanie podana w kombinacji z L-NNA i z PTX (L-arginina + L-NNA + PTX + WRS), jak przedstawiono na rycinie 5.

Tabela VII przedstawia wpływ wzrastających dawek SC-560 (selektywnego inhibitora COX-1), podawanych *i.g.*, na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na

żołądkowy przepływ krwi w modelu stresowym (WRS). Dawki mniejsze niż 5 mg/kg nie powodowały statystycznie istotnych zmian średniej liczby uszkodzeń ani żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą placebo + WRS. Statystycznie znamiennej wzrost liczby uszkodzeń, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi, nastąpił przy dawce 5 mg/kg i nie zmieniał się w sposób istotny przy dalszym wzroście dawki. Dlatego też 5 mg/kg zostało wybrane jako dawka o działaniu uszkadzającym w modelu stresowym (WRS).

**Tabela VII.** Wpływ wzrastających dawek SC-560, podawanych dożołądkowo (*i.g.*), na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowy przepływ krwi (wyrażony jako % przepływu w zdrowej błonie śluzowej żołądka) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	Średnia liczba uszkodzeń	Żołądkowy przepływ krwi
Placebo + WRS	24 ± 1,5	60 ± 2%
SC-560 1 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	24,5 ± 2	60 ± 3%
SC-560 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	26 ± 5	58 ± 4%
<b>SC-560 5 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	27 ± 2*	52 ± 2%*
SC-560 10 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	28 ± 3*	53 ± 1,5%*

\* statystycznie znamienne zwiększenie średniej liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka lub statystycznie istotne zmniejszenie żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Tabela VIII przedstawia wpływ wzrastających dawek rofekoksybu (selektywnego inhibitora COX-2), podawanych *i.g.*, na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na żołądkowy przepływ krwi w modelu stresowym (WRS). Dawki mniejsze niż 10 mg/kg nie powodowały statystycznie istotnych zmian średniej liczby uszkodzeń ani żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą placebo + WRS. Statystycznie znamiennej wzrost liczby uszkodzeń, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi, nastąpił przy dawce 10 mg/kg i nie zmieniał się w sposób istotny przy dalszym wzroście dawki. Dlatego też 10 mg/kg zostało wybrane jako dawka o działaniu uszkadzającym w modelu stresowym (WRS).

**Tabela VIII.** Wpływ wzrastających dawek rofekoksybu, podawanych dożołądkowo (*i.g.*), na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowy przepływ krwi (wyrażony jako % przepływu w zdrowej błonie śluzowej żołądka) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	Średnia liczba uszkodzeń	Żołądkowy przepływ krwi
Placebo + WRS	24 ± 1,5	60 ± 2%
Rofekoksyb 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	23 ± 4	61 ± 1%
Rofekoksyb 5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	24 ± 5	62 ± 4%
<b>Rofekoksyb 10 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	26,5 ± 1*	54 ± 1%*
Rofekoksyb 20 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	27,5 ± 3,5*	53 ± 3%*

\* statystycznie znamienne zwiększenie średniej liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka lub statystycznie istotne zmniejszenie żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Tabela IX przedstawia wpływ wzrastających dawek resveratrolu (preferencyjnego inhibitora COX-1 i zmiatacza wolnych rodników), podawanych *i.g.*, na średnią liczbę



uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na żołądkowy przepływ krwi w modelu stresowym (WRS). Dawki mniejsze niż 10 mg/kg nie powodowały statystycznie istotnych zmian średniej liczby uszkodzeń ani żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą placebo + WRS. Statystycznie znamiennej redukcja liczby uszkodzeń, z towarzyszącym wzrostem żołądkowego przepływu krwi, nastąpił przy dawce 10 mg/kg i nie zmieniał się w sposób istotny przy dalszym wzroście dawki. Dlatego też 10 mg/kg zostało wybrane jako dawka o działaniu ochronnym w modelu stresowym (WRS).

**Tabela IX.** Wpływ wzrastających dawek resweratrolu, podawanych dożołądkowo (*i.g.*), na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i żołądkowy przepływ krwi (wyrażony jako % przepływu w zdrowej błonie śluzowej żołądka) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	Średnia liczba uszkodzeń	Żołądkowy przepływ krwi
Placebo + WRS	22 ± 3	60 ± 2%
Resweratrol 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	23 ± 4	61 ± 3%
Resweratrol 5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	21 ± 2	64 ± 2%
<b>Resweratrol 10 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	16 ± 1*	72 ± 2%*
Resweratrol 20 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15 ± 2*	71 ± 3%*

\* statystycznie znamienne zmniejszenie średniej liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka lub statystycznie istotne zwiększenie żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Rycina 7 przedstawia wpływ inhibitorów COX: aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*) na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na wartość żołądkowego przepływu krwi. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS. Stwierdzono, że podanie SC-560 lub resweratrolu, albo rofekoksybu, w wymienionych dawkach, na zdrową błonę śluzową żołądka, nie powoduje powstawania uszkodzeń albo występują pojedyncze uszkodzenia, których liczba nie różni się w sposób statystycznie istotny od rezultatów podania placebo (0,9% NaCl). Liczne uszkodzenia były obserwowane dopiero po zastosowaniu procedury WRS. Jedynie podanie ASA (40 mg/kg *i.g.*) na zdrową błonę śluzową powoduje powstanie nielicznych uszkodzeń. Wyniki te wskazują, iż zastosowanie SC-560, resweratrolu lub rofekoksybu nie ma działania wrzodotwórczego na zdrową błonę śluzową żołądka, aspiryna zaś w wymienionej dawce ma słabe działanie uszkadzające, które jest jednak prawie pięciokrotnie słabsze w porównaniu z wrzodotwórczym działaniem WRS (grupa: placebo + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących wymienione preparaty na zdrową błonę śluzową żołądka (SC-560 bez WRS, resweratrol bez WRS, rofekoksyb bez WRS), z wyjątkiem aspiryny (ASA bez WRS). Natomiast wykazano statystycznie znamienne różnice w odniesieniu do grupy zwierząt, która otrzymała placebo i została poddana WRS (placebo + WRS), jak również w stosunku do grup: ASA + WRS, SC-560 + WRS, resweratrol + WRS, rofekoksyb + WRS.

Do określenia ewentualnego ochronnego, lub uszkadzającego, działania podawanych preparatów w modelu stresowym (WRS) przyjęto za punkt odniesienia grupę zwierząt poddanych WRS, która otrzymała wcześniej 0,9% NaCl (placebo + WRS). Stwierdzono statystycznie znamiennej wzrost liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka w grupach zwierząt otrzymujących aspirynę (ASA 40 mg/kg), SC-560 w dawce 5 mg/kg, rofekoksyb w dawce 10 mg/kg (ASA + WRS, SC-560 + WRS, rofekoksyb + WRS). Natomiast zastosowanie resweratrolu w dawce 10 mg/kg (resveratrol + WRS) prowadziło do istotnego zmniejszenia liczby uszkodzeń błony śluzowej żołądka.

Na rycinie 7 przedstawiono także wartości żołądkowego przepływu krwi. Wartość przepływu krwi w zdrowej błonie śluzowej żołądka została przyjęta jako 100% (punkt odniesienia). Poddanie zwierząt stresowi (placebo + WRS) powodowało statystycznie znamiennej redukcję żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z przepływem krwi w zdrowej błonie śluzowej (placebo bez WRS). Podanie, na 30 minut przed WRS, aspiryny, SC-560 lub rofekoksybu (ASA + WRS, SC-560 + WRS, rofekoksyb + WRS) prowadziło do znamiennej obniżenia żołądkowego przepływu krwi, natomiast zastosowanie resweratrolu (resveratrol + WRS) powodowało statystycznie istotny wzrost żołądkowego przepływu krwi.

Wyniki przedstawione na rycinie 7 wskazują, że zastosowanie selektywnych bądź nieselektywnych inhibitorów COX (ASA + WRS, SC-560 + WRS, rofekoksyb + WRS) powoduje wzrost liczby uszkodzeń, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z grupą placebo + WRS. Wyjątek stanowi resveratrol (resveratrol + WRS), który wykazuje działanie gastroprotekcyjne (spadek liczby uszkodzeń z równoczesnym wzrostem żołądkowego przepływu krwi).

Rycina 8 przedstawia wpływ SC-560 w dawce 5 mg/kg (*i.g.*), resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*), stosowanych samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*) na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na wartość żołądkowego przepływu krwi u zwierząt, u których zastosowano procedurę zniszczenia włókien C przez wysokie dawki kapsaicyny (odnerwienie kapsaicynowe). Uzyskane wyniki wskazują, iż podanie placebo lub SC-560, albo resweratrolu, jak również rofekoksybu, w wymienionych dawkach, zwierzętom ze zniszczonymi włóknami C (odnerwienie kapsaicynowe), bez poddania ich stresowi (WRS), nie powoduje powstawania uszkodzeń albo występują pojedyncze uszkodzenia, których liczba nie różni się w sposób statystycznie istotny od rezultatów podania placebo zwierzętom bez odnerwienia kapsaicynowego, niepoddanym WRS. Liczne uszkodzenia obserwowane były dopiero po zastosowaniu procedury WRS.

Przyjmując za punkt odniesienia grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych WRS (placebo + WRS), stwierdza się statystycznie znamiennej wzrost liczby uszkodzeń w grupie zwierząt odnerwionych, które otrzymały placebo (odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS). Statystycznie istotne zwiększenie liczby uszkodzeń jest obserwowane także po zastosowaniu SC-560 i rofekoksybu w grupach zwierząt odnerwionych, poddanych WRS (odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb + WRS). Jedynie w przypadku podania resweratrolu (odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol + WRS) liczba uszkodzeń nie różniła się w sposób statystycznie znamiennej w porównaniu z grupą placebo + WRS. Użycie peptydu pochodnego genu kalcitoniny (CGRP) w dawce 10 µg/kg (*i.p.*) u zwierząt z odnerwieniem

kapsaicynowym, w kombinacji z wymienionymi preparatami (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS) prowadziło do redukcji liczby uszkodzeń w odniesieniu do odpowiednich grup, z zastosowanym preparatem, u zwierząt odnerwionych, poddanych WRS. Jednakże wartości te w przypadku grup z SC-560 i z rofekoksybem (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS) były wciąż znamienne wyższe w porównaniu z grupą placebo + WRS. Zastosowanie CGRP u zwierząt odnerwionych, którym zaaplikowano placebo (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS), powodowało obniżenie liczby uszkodzeń do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi włóknami C (placebo + WRS), natomiast podanie resveratrolu w kombinacji z CGRP (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS), powodowało redukcję liczby uszkodzeń, nawet do wartości niższej, niż obserwowano w grupie placebo + WRS.

Na rycinie 8 przedstawiono także wartości żołądkowego przepływu krwi. Wartość przepływu krwi w zdrowej błonie śluzowej żołądka została przyjęta jako 100% (punkt odniesienia). Poddanie zwierząt stresowi (placebo + WRS) powodowało statystycznie znaczącą redukcję żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z przepływem krwi w zdrowej błonie śluzowej (placebo bez WRS). Poddanie zwierząt, z odnerwieniem kapsaicynowym, stresowi (odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS) powodowało dalszy spadek wartości żołądkowego przepływu krwi, istotnie niższy niż w przypadku zwierząt z zachowanymi włóknami C po WRS (placebo + WRS). Tak niska wartość żołądkowego przepływu krwi była obserwowana również po zastosowaniu SC-560 i rofekoksybu (odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb + WRS). W przypadku zastosowania resveratrolu (odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol + WRS) żołądkowy przepływ krwi nie różnił się w sposób statystycznie istotny od przepływu zarejestrowanego w grupie placebo + WRS. Dodatkowe użycie CGRP, w kombinacji z wszystkimi wymienionymi preparatami (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS), prowadziło do wzrostu wartości żołądkowego przepływu krwi.

Wyniki przedstawione na rycinie 8 wskazują, że zniszczenie włókien C (odnerwienie kapsaicynowe), u zwierząt poddanych WRS, powoduje zwiększenie liczby uszkodzeń, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi. Dodanie selektywnych inhibitorów COX (SC-560 i rofekoksybu) pogłębia ten rezultat, zastosowanie zaś resveratrolu u zwierząt ze zniszczonymi włóknami C nie nasila efektu gastrotoksycznego. Zastosowanie CGRP, będącego głównym mediatorem włókien C w żołądku, zmniejsza efekt uszkadzający podawanych substancji do poziomu obserwowanego u zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych stresowi (WRS), jak przedstawiono to na rycinie 7 (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS do poziomu placebo + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS do poziomu SC-560 + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS do poziomu resveratrol + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS do poziomu rofekoksyb + WRS).

Rycina 9 przedstawia wpływ pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*), aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), jak również obu tych substancji podanych łącznie (w odstępie półgodziennym), stosowanych samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*) na średnią liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka i na wartość żołądkowego przepływu krwi u zwierząt, u których zastosowano procedurę odnerwienia kapsaicynowego. Uzyskane wyniki wskazują, iż podanie placebo lub PTX, w wymienionych dawkach, zwierzętom z odnerwieniem kapsaicynowym, bez poddania ich stresowi (WRS), nie powoduje powstawania uszkodzeń albo występują pojedyncze uszkodzenia, których liczba nie różni się w sposób statystycznie istotny od rezultatów podania placebo zwierzętom bez odnerwienia kapsaicynowego, niepoddanym WRS. Liczne uszkodzenia obserwowane były dopiero po zastosowaniu procedury WRS. Jedynie w przypadku użycia ASA (40 mg/kg *i.g.*) u zwierząt odnerwionych bez WRS stwierdza się niewielką, znamiennej wyższą liczbę uszkodzeń ( $6 \pm 2$ ).

Przyjmując za punkt odniesienia grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, podanych WRS (placebo + WRS), stwierdza się statystycznie znamiennej wzrost liczby uszkodzeń w grupie zwierząt odnerwionych, które otrzymały placebo (odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS), jak również po zastosowaniu aspiryny lub kombinacji pentoksyfiliny z aspiryną (odnerwienie kapsaicynowe + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA + WRS). Natomiast po zastosowaniu pentoksyfiliny (odnerwienie kapsaicynowe + PTX + WRS) obserwuje się statystycznie znamiennej redukcję liczby uszkodzeń w odniesieniu do grupy placebo + WRS. Użycie CGRP (10 µg/kg *i.p.*) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym w kombinacji z wymienionymi preparatami (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS) prowadziło do redukcji liczby uszkodzeń. Jednakże wartości te w przypadku grupy z aspiryną (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + ASA + WRS) były wciąż znamiennej wyższe w porównaniu z grupą placebo + WRS. Zastosowanie CGRP u zwierząt odnerwionych, którym zaaplikowano placebo lub kombinację pentoksyfiliny z aspiryną (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS), powodowało obniżenie liczby uszkodzeń do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi włóknami C (placebo + WRS), natomiast podanie pentoksyfiliny, w kombinacji z CGRP (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS), powodowało redukcję liczby uszkodzeń, nawet do wartości niższej, niż obserwowano w grupie placebo + WRS.

Na rycinie 9 przedstawiono także wartości żołądkowego przepływu krwi. Wartość przepływu krwi w zdrowej błonie śluzowej żołądka została przyjęta jako 100% (punkt odniesienia). Poddanie zwierząt stresowi (placebo + WRS) powodowało statystycznie znamiennej redukcję żołądkowego przepływu krwi, w porównaniu z przepływem krwi w zdrowej błonie śluzowej (placebo bez WRS). Zastosowanie procedury WRS u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym (odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS) powodowało dalszy spadek wartości żołądkowego przepływu krwi, istotnie niższy niż w przypadku zwierząt z zachowanymi włóknami C podanych WRS (placebo + WRS). Tak niska wartość żołądkowego przepływu krwi była obserwowana również po zastosowaniu aspiryny (odnerwienie kapsaicynowe + ASA + WRS). W przypadku użycia pentoksyfiliny, samodzielnie lub razem z aspiryną (odnerwienie kapsaicynowe + PTX +

WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA + WRS), żołądkowy przepływ krwi nie różnił się w sposób statystycznie istotny od przepływu zarejestrowanego w grupie placebo + WRS. Dodatkowe użycie CGRP prowadziło do wzrostu wartości żołądkowego przepływu krwi.

Wyniki przedstawione na rycinie 9 wskazują, że zniszczenie włókien C (odnerwienie kapsaicynowe), u zwierząt poddanych WRS, powoduje zwiększenie liczby uszkodzeń, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi. Dodanie aspiryny skutek ten pogłębia, zastosowanie zaś pentoksyfiliny, u zwierząt ze zniszczonymi włóknami C, powoduje niewielki efekt gastroprotekcyjny. Zastosowanie CGRP, będącego głównym mediatorem włókien C w żołądku, zmniejsza efekt uszkodzający podawanych substancji do poziomu obserwowanego u zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych stresowi (WRS), jak przedstawiono na rycinie 4 (ASA + WRS) i rycinie 5 (PTX + WRS).

## 4.2. Peroksydacja lipidów i mechanizmy antyoksydacyjne

W celu określenia nasilenia procesu peroksydacji lipidów dokonano pomiaru stężeń malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA + 4-HNE). Natomiast jako wskaźniki sprawności mechanizmów antyoksydacyjnych przyjęto aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH).

### 4.2.1. Wpływ substancji uwalniających tlenek azotu

Tabela X przedstawia wpływ wzrastających dawek SIN-1, podawanych *i.g.*, na stężenie MDA + 4-HNE, aktywność SOD i poziom GSH w modelu WRS. SIN-1 w dawkach 1 mg/kg i 2,5 mg/kg nie powodował statystycznie istotnych zmian wymienionych parametrów w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymały placebo (0,9% NaCl). Statystycznie znamienne obniżenie stężenia MDA i 4-HNE, świadczące o zmniejszeniu oksydacyjnego uszkodzenia tkanek, jak również zwiększenie aktywności SOD i poziomu GSH, będące wyrazem wzrostu sprawności mechanizmów antyoksydacyjnych, były obserwowane przy dawce 5 mg/kg. Odpowiadało to dawce przyjętej jako gastroprotekcyjna na podstawie średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi (zob. tab. I).

**Tabela X.** Wpływ wzrastających dawek SIN-1, podawanych dożołądkowo (*i.g.*), na poziom malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE), wyrażonego w nanomolach na gram tkanki (nmol/g), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), wyrażoną w jednostkach na gram tkanki (U/g) i na poziom zredukowanego glutationu (GSH), wyrażonego w mikromolach na gram tkanki ( $\mu\text{mol/g}$ ) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	MDA + 4-HNE	SOD	GSH
Placebo + WRS	15,85 $\pm$ 1,27	245,20 $\pm$ 22,00	0,63 $\pm$ 0,02
SIN-1 1 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,99 $\pm$ 0,95	250,00 $\pm$ 15,00	0,59 $\pm$ 0,11
SIN-1 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,21 $\pm$ 1,30	286,54 $\pm$ 79,26	0,65 $\pm$ 0,09
<b>SIN-1 5 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	11,66 $\pm$ 0,80*	334,85 $\pm$ 44,10*	0,89 $\pm$ 0,05*
SIN-1 10 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	11,51 $\pm$ 1,05*	341,00 $\pm$ 52,05*	0,88 $\pm$ 0,12*

\* statystycznie znaczne zmniejszenie poziomu MDA + 4-HNE lub statystycznie istotne zwiększenie aktywności SOD albo poziomu GSH w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Tabela XI przedstawia wpływ wzrastających dawek SNAP, podawanych *i.g.*, na stężenie MDA + 4-HNE, aktywność SOD i poziom GSH w modelu WRS. SNAP w dawkach 1 mg/kg i 2,5 mg/kg nie powodował statystycznie istotnych zmian wymienionych parametrów w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymały placebo (0,9% NaCl). Statystycznie znaczne obniżenie stężenia MDA i 4-HNE, świadczące o zmniejszeniu oksydacyjnego uszkodzenia tkanek, jak również zwiększenie aktywności SOD i poziomu GSH, będące wyrazem wzrostu sprawności mechanizmów antyoksydacyjnych, obserwowane były przy dawce 5 mg/kg. Odpowiadało to dawce przyjętej jako gastroprotekcja na podstawie średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi (zob. tab. II).

**Tabela XI.** Wpływ wzrastających dawek SNAP podawanych dożołądkowo (*i.g.*) na poziom malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE), wyrażonego w nanomolach na gram tkanki (nmol/g), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), wyrażoną w jednostkach na gram tkanki (U/g) i na poziom zredukowanego glutationu (GSH), wyrażonego w mikromolach na gram tkanki ( $\mu\text{mol/g}$ ) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	MDA + 4-HNE	SOD	GSH
Placebo + WRS	15,85 $\pm$ 1,27	245,20 $\pm$ 22,00	0,63 $\pm$ 0,02
SNAP 1 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,76 $\pm$ 2,05	271,45 $\pm$ 27,96	0,64 $\pm$ 0,06
SNAP 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	14,99 $\pm$ 2,94	292,04 $\pm$ 65,23	0,68 $\pm$ 1,86
<b>SNAP 5 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	12,82 $\pm$ 0,20*	459,65 $\pm$ 53,60*	0,93 $\pm$ 0,03*
SNAP 10 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	12,97 $\pm$ 0,42*	470,94 $\pm$ 64,21*	0,92 $\pm$ 1,05*

\* statystycznie znaczne zmniejszenie poziomu MDA + 4-HNE lub statystycznie istotne zwiększenie aktywności SOD albo poziomu GSH w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Tabela XII przedstawia wpływ wzrastających dawek nitrogliceryny, podawanych *i.g.*, na stężenie MDA + 4-HNE, aktywność SOD i poziom GSH w modelu WRS. Nitrogliceryna w dawkach 2,5 mg/kg i 5 mg/kg nie powodowała statystycznie istotnych zmian wymienionych parametrów w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymały placebo (0,9% NaCl). Statystycznie znaczne obniżenie stężenia MDA

i 4-HNE, świadczące o zmniejszeniu oksydacyjnego uszkodzenia tkanek, jak również zwiększenie aktywności SOD i poziomu GSH, będące wyrazem wzrostu sprawności mechanizmów antyoksydacyjnych, były obserwowane przy dawce 10 mg/kg. Odpowiadało to dawce przyjętej jako gastroprotekcja na podstawie średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi (zob. tab. III).

**Tabela XII.** Wpływ wzrastających dawek nitrogliceryny (NTG) podawanych dożołądkowo (*i.g.*) na poziom malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE), wyrażonego w nanomolach na gram tkanki (nmol/g), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), wyrażoną w jednostkach na gram tkanki (U/g) i na poziom zredukowanego glutationu (GSH), wyrażonego w mikromolach na gram tkanki ( $\mu\text{mol/g}$ ) w modelu 3,5-godzinnej stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	MDA + 4-HNE	SOD	GSH
Placebo + WRS	15,85 $\pm$ 1,27	245,20 $\pm$ 22,00	0,63 $\pm$ 0,02
NTG 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	16,00 $\pm$ 2,50	272,20 $\pm$ 32,50	0,61 $\pm$ 0,08
NTG 5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,51 $\pm$ 3,05	301,02 $\pm$ 10,05	0,70 $\pm$ 0,95
<b>NTG 10 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	9,52 $\pm$ 0,11*	600,30 $\pm$ 10,10*	0,91 $\pm$ 0,06*
NTG 20 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	9,71 $\pm$ 0,32*	594,62 $\pm$ 24,15*	0,88 $\pm$ 0,04*

\* statystycznie znaczne zmniejszenie poziomu MDA + 4-HNE lub statystycznie istotne zwiększenie aktywności SOD albo poziomu GSH w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Rycina 10 przedstawia wpływ donorów NO, takich jak SIN-1 (5 mg/kg *i.g.*), SNAP (5 mg/kg *i.g.*) i nitrogliceryna (NTG 10 mg/kg *i.g.*), na stężenie malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA + 4-HNE) w błonie śluzowej żołądka. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej stężenie MDA i 4-HNE utrzymywało się na bardzo niskim poziomie (5,9  $\pm$  0,1 nmol/g tkanki). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących wymienione preparaty na zdrową błonę śluzową żołądka (SIN-1 bez WRS, SNAP bez WRS, NTG bez WRS). Natomiast wykazano statystycznie znaczny wzrost poziomu MDA i 4-HNE w odniesieniu do grupy zwierząt, która otrzymała placebo (0,9% NaCl) i została poddana WRS (placebo + WRS), jak również w stosunku do grup: SIN-1 + WRS, SNAP + WRS, NTG + WRS.

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znaczne obniżenie poziomu MDA + 4-HNE w grupach zwierząt, którym podano SIN-1 w dawce 5 mg/kg, SNAP w dawce 5 mg/kg, NTG w dawce 10 mg/kg przed rozpoczęciem WRS (SIN-1 + WRS, SNAP + WRS, NTG + WRS).

Wyniki przedstawione na rycinie 10 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka nasilenie procesu peroksydacji lipidów jest bardzo niskie i nie zmienia się po zastosowaniu SIN-1, SNAP i NTG w wyżej wymienionych dawkach. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny wzrost nasilenia peroksydacji lipidów, przejawiający się prawie trzykrotnym podwyższeniem stężenia MDA + 4-HNE (15,85  $\pm$  1,27 nmol/g). Zastosowanie SIN-1 (5 mg/kg *i.g.*), SNAP (5 mg/kg *i.g.*) lub NTG (10 mg/kg *i.g.*) przed

rozpoczęciem WRS prowadziło do redukcji poziomu MDA i 4-HNE, będącej wyrazem słabszego generowania nadrodników lipidów.

Rycina 11 przedstawia aktywność dysmutazy ponadrodnikowej (SOD), w błonie śluzowej żołądka, po zastosowaniu SIN-1 (5 mg/kg *i.g.*), SNAP (5 mg/kg *i.g.*) lub NTG (10 mg/kg *i.g.*). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej aktywność SOD utrzymuje się na wysokim poziomie ( $371,79 \pm 33,23$  U/g tkanki). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących wymienione preparaty na zdrową błonę śluzową żołądka (SIN-1 bez WRS, SNAP bez WRS, NTG bez WRS). Wykazano natomiast statystycznie istotne obniżenie aktywności SOD w grupie zwierząt poddanych WRS (placebo + WRS). Zaaplikowanie nitrogliceryny w dawce 10 mg/kg (*i.g.*), przed WRS (NTG + WRS), prowadziło do statystycznie znaczącego wzrostu aktywności SOD. Użycie SIN-1 (5 mg/kg *i.g.*) lub SNAP (5 mg/kg *i.g.*), przed WRS (SIN-1 + WRS, SNAP + WRS), nie prowadziło do statystycznie istotnych różnic w aktywności SOD, w porównaniu ze zdrową błoną śluzową (placebo bez WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znaczący wzrost aktywności SOD w grupach zwierząt, którym podano substancje uwalniające NO w wyżej wymienionych dawkach (SIN-1 + WRS, SNAP + WRS, NTG + WRS). Wyniki przedstawione na rycinie 11 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka aktywność SOD osiąga wysoką wartość, świadcząca o sprawności mechanizmów zmiatania reaktywnych form tlenu. Zaaplikowanie SIN-1, SNAP i NTG w wymienionych dawkach na zdrową błonę śluzową nie zmienia aktywności tego enzymu.

Podanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny spadek aktywności SOD. Użycie SIN-1 (5 mg/kg *i.g.*) lub SNAP (5 mg/kg *i.g.*), przed rozpoczęciem WRS, prowadziło do powrotu aktywności SOD w kierunku wartości zbliżonych do tych obserwowanych w zdrowych tkankach, świadcząc o wzroście sprawności mechanizmów antyoksydacyjnych. Podanie nitrogliceryny (NTG + WRS) wywoływało podobne skutki, z tym że nitrogliceryna powodowała wzrost aktywności SOD powyżej wartości stwierdzanych w zdrowych tkankach.

Rycina 12 przedstawia wpływ SIN-1 (5 mg/kg *i.g.*), SNAP (5 mg/kg *i.g.*) lub NTG (10 mg/kg *i.g.*) na poziom zredukowanego glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej stężenie GSH utrzymuje się na wysokim poziomie ( $0,9 \pm 0,06$   $\mu\text{mol/g}$  tkanki). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących wymienione preparaty na zdrową błonę śluzową żołądka (SIN-1 bez WRS, SNAP bez WRS, NTG bez WRS). Wykazano natomiast statystycznie istotne obniżenie poziomu GSH w grupie zwierząt poddanych WRS (placebo + WRS). Użycie SIN-1 (5 mg/kg *i.g.*) lub SNAP (5 mg/kg *i.g.*), albo NTG (10 mg/kg *i.g.*) przed WRS (SIN-1 + WRS, SNAP + WRS, NTG + WRS) nie prowadziło



do statystycznie istotnych zmian poziomu GSH, w porównaniu ze zdrową błoną śluzową (placebo bez WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znamienne wzrost poziomu GSH w grupach zwierząt, którym podano substancje uwalniające NO w wyżej wymienionych dawkach (SIN-1 + WRS, SNAP + WRS, NTG + WRS).

Wyniki przedstawione na rycinie 12 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka poziom GSH osiąga wysoką wartość, świadczącą o sprawności mechanizmów zmiatania reaktywnych form tlenu. Zastosowanie SIN-1, SNAP i NTG, w wymienionych dawkach na zdrową błonę śluzową, nie zmienia w sposób statystycznie znamienne poziomu GSH. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny spadek poziomu GSH. Użycie SIN-1 (5 mg/kg *i.g.*), SNAP (5 mg/kg *i.g.*) lub NTG (10 mg/kg *i.g.*) prowadziło do powrotu poziomu GSH w kierunku wartości zbliżonych do tych obserwowanych w zdrowych tkankach, świadcząc o regeneracji puli GSH.

#### 4.2.2. Wpływ podawania aspiryny z suplementacją tlenu azotu

Tabela XIII przedstawia wpływ wzrastających dawek NO-aspiryny (NO-ASA), podawanych *i.g.*, na stężenie MDA + 4-HNE, aktywność SOD i poziom GSH w modelu WRS. Nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian w porównaniu z grupą placebo + WRS, w przypadku zastosowania dawki 10 mg/kg. Znamienne spadek stężenia MDA + 4-HNE był obserwowany już przy dawce 20 mg/kg, ale dopiero dawka 40 mg/kg prowadziła do redukcji poziomu MDA + 4-HNE o około 40% w porównaniu z grupą placebo + WRS. Znamienne statystycznie wzrost aktywności SOD stwierdzono już przy dawce 20 mg/kg, lecz dawka 40 mg/kg powodowała podwyższenie aktywności tego enzymu o około 90% w porównaniu z grupą placebo + WRS. Aktywność SOD nie wzrastała w sposób statystycznie istotny po zastosowaniu większych ilości NO-ASA. Statystycznie istotny wzrost puli GSH stwierdzano przy 40 mg/kg. Odpowiadało to dawce przyjętej jako gastroprotekcyjna na podstawie średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi (zob. tab. IV).

**Tabela XIII.** Wpływ wzrastających dawek NO-aspiryny (NO-ASA) podawanych dożołądkowo (*i.g.*) na poziom malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE), wyrażonego w nanomolach na gram tkanki (nmol/g), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), wyrażoną w jednostkach na gram tkanki (U/g) i na poziom zredukowanego glutationu (GSH), wyrażonego w mikromolach na gram tkanki ( $\mu\text{mol/g}$ ) w modelu 3,5-godzinne stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	MDA + 4-HNE	SOD	GSH
Placebo + WRS	15,85 ± 1,27	245,20 ± 22,00	0,63 ± 0,02
NO-ASA 10 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,24 ± 2,03	269,15 ± 32,45	0,65 ± 0,04
NO-ASA 20 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	11,92 ± 4,20*	325,00 ± 12,50*	0,70 ± 0,06
<b>NO-ASA 40 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	9,10 ± 1,05*	466,56 ± 29,40*	0,85 ± 0,09*
NO-ASA 80 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	9,15 ± 1,90*	465,20 ± 13,75*	0,91 ± 0,08*

\* statystycznie znamienne zmniejszenie poziomu MDA + 4-HNE lub statystycznie istotne zwiększenie aktywności SOD albo poziomu GSH w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Tabela XIV przedstawia wpływ wzrastających dawek aspiryny (ASA), podawanych *i.g.*, na stężenie MDA + 4-HNE, aktywność SOD i poziom GSH w modelu WRS. ASA w dawkach 10 mg/kg i 20 mg/kg nie powodowała statystycznie istotnych zmian wymienionych parametrów, w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymały placebo (0,9% NaCl). Statystycznie znamienne obniżenie stężenia MDA i 4-HNE, świadczące o zmniejszeniu nasilenia procesu peroksydacji lipidów, obserwowano w przypadku zaaplikowania 40 mg/kg. Dalszy wzrost dawki ASA (80 mg/kg) powodował podwyższenie stężenia MDA + 4-HNE w pobliże wartości obserwowanych w grupie placebo + WRS.

**Tabela XIV.** Wpływ wzrastających dawek aspiryny (ASA) podawanych dożołądkowo (*i.g.*) na poziom malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE), wyrażonego w nanomolach na gram tkanki (nmol/g), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), wyrażoną w jednostkach na gram tkanki (U/g) i na poziom zredukowanego glutationu (GSH), wyrażonego w mikromolach na gram tkanki ( $\mu\text{mol/g}$ ) w modelu 3,5-godzinne go stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	MDA + 4-HNE	SOD	GSH
Placebo + WRS	15,85 ± 1,27	245,20 ± 22,00	0,63 ± 0,02
ASA 10 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	16,01 ± 2,75	251,05 ± 19,35	0,66 ± 0,04
ASA 20 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	14,65 ± 1,80	265,48 ± 26,79	0,65 ± 0,05
<b>ASA 40 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	11,00 ± 2,00*	287,20 ± 40,00*	0,62 ± 0,02
ASA 80 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,25 ± 2,45	290,45 ± 36,20*	0,59 ± 0,06

\* statystycznie znamienne zmniejszenie poziomu MDA + 4-HNE lub statystycznie istotne zwiększenie aktywności SOD albo poziomu GSH w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Rycina 13 przedstawia wpływ aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), NO-aspiryny (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.*), lub kombinacji 2 preparatów: nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg *i.g.*) z aspiryną (ASA 40 mg/kg *i.g.*), na stężenie malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA + 4-HNE) w błonie śluzowej żołądka.

Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących NO-ASA i kombinację NTG + ASA na zdrową błonę śluzową (NO-ASA bez WRS, NTG + ASA bez WRS). Natomiast wykazano statystycznie znamienne wzrost poziomu MDA i 4-HNE w odniesieniu do grupy zwierząt, która otrzymała aspirynę na zdrową błonę śluzową (ASA bez WRS), jak również w odniesieniu do grup zwierząt otrzymujących preparaty i poddanych WRS (placebo + WRS, ASA + WRS, NO-ASA + WRS, NTG + ASA + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znamienne obniżenie poziomu MDA + 4-HNE w grupach zwierząt, którym podano ASA w dawce 40 mg/kg, NO-ASA w dawce 40 mg/kg lub kombinację NTG (10 mg/kg) z ASA (40 mg/kg), przed rozpoczęciem WRS (ASA + WRS, NO-ASA + WRS, NTG + ASA + WRS).

Wyniki przedstawione na rycinie 13 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka nasilenie procesu peroksydacji lipidów jest bardzo niskie i nie zmienia się po zastosowaniu NO-ASA, lub kombinacji NTG + ASA, w wyżej wymienionych dawkach. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny wzrost nasilenia peroksydacji lipidów. Zastosowanie NO-ASA (40 mg/kg) lub kombinacji NTG (10 mg/kg) z ASA (40 mg/kg), przed rozpoczęciem WRS, prowadziło do redukcji poziomu MDA i 4-HNE, będącej wyrazem słabszego generowania nadtlenków lipidów niż obserwowane w grupie placebo + WRS. Użycie ASA (40 mg/kg) na zdrową błonę śluzową żołądka (ASA bez WRS) powodowało nasilenie procesu peroksydacji lipidów, w porównaniu ze zdrową tkanką (placebo bez WRS). Natomiast zastosowanie ASA (40 mg/kg), w modelu w stresowym (ASA + WRS), prowadziło do spadku stężenia produktów peroksydacji lipidów w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymały placebo (placebo + WRS).

Rycina 14 przedstawia aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka po zastosowaniu ASA (40 mg/kg *i.g.*), NO-ASA (40 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji NTG (10 mg/kg *i.g.*) z ASA (40 mg/kg *i.g.*). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej aktywność SOD utrzymuje się na wysokim poziomie. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących kombinację wyżej wymienionych preparatów, zarówno na zdrową błonę śluzową (NTG + ASA bez WRS), jak również przed stresem (NTG + ASA + WRS). Brak statystycznie znamienych różnic był obserwowany także w przypadku zastosowania NO-aspiryny w modelu stresowym (NO-ASA + WRS). Natomiast gdy NO-aspiryna zaaplikowana została na zdrową błonę śluzową żołądka (NO-ASA bez WRS), obserwowano statystycznie istotny wzrost aktywności SOD. Statystycznie znamienne zmniejszenie aktywności SOD stwierdzane było w odniesieniu do grup: placebo + WRS, ASA bez WRS, ASA + WRS.

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znamienne podwyższenie aktywności SOD w grupach, w których dokonano suplementacji NO: NO-ASA bez WRS, NO-ASA + WRS, NTG + ASA bez WRS, NTG + ASA + WRS.

Wyniki przedstawione na rycinie 14 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka aktywność SOD osiąga wysoką wartość, świadczącą o sprawności mechanizmów zmiatania reaktywnych form tlenu. Zaaplikowanie nitrogliceryny wraz z aspiryną na zdrową błonę śluzową (NTG + ASA bez WRS) nie zmienia aktywności tego enzymu, a w przypadku użycia NO-aspiryny (NO-ASA bez WRS) następuje wzrost aktywności SOD. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny spadek aktywności SOD. Zastosowanie aspiryny, zarówno na zdrową błonę śluzową, jak i w modelu WRS (ASA bez WRS, ASA + WRS), prowadzi do obniżenia aktywności SOD. Użycie NO-ASA (40 mg/kg) lub kombinacji NTG (10 mg/kg) z ASA (40 mg/kg) przed rozpoczęciem WRS (NO-ASA + WRS, NTG + ASA + WRS) prowadziło do powrotu ak-

tywności SOD w kierunku wartości zbliżonych do tych obserwowanych w zdrowych tkankach, świadcząc o wzroście sprawności mechanizmów antyoksydacyjnych.

Rycina 15 przedstawia wpływ ASA (40 mg/kg *i.g.*), NO-ASA (40 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji NTG (10 mg/kg *i.g.*) z ASA (40 mg/kg *i.g.*) na poziom zredukowanego glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej stężenie GSH utrzymuje się na wysokim poziomie. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt, którym zaaplikowano NO-ASA lub kombinację NTG z ASA, zarówno na zdrową błonę śluzową, jak również przed stresem (NO-ASA bez WRS, NO-ASA + WRS, NTG + ASA bez WRS, NTG + ASA + WRS). Wykazano natomiast statystycznie istotne obniżenie poziomu GSH w grupach z zastosowaną aspiryną (ASA bez WRS, ASA + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znamienne wzrost poziomu GSH w odniesieniu do grup, w których zastosowano suplementację NO (NO-ASA bez WRS, NO-ASA + WRS, NTG + ASA bez WRS, NTG + ASA + WRS). W przypadku użycia aspiryny (ASA bez WRS, ASA + WRS) stężenie glutationu nie różniło się w sposób statystycznie istotny w porównaniu z grupą placebo + WRS.

Wyniki przedstawione na rycinie 15 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka poziom GSH osiąga wysoką wartość, świadczącą o sprawności mechanizmów zmiatania reaktywnych form tlenu. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje statystycznie istotny spadek poziomu GSH. Efekt ten jest obserwowany po podaniu aspiryny, zarówno na zdrową błonę śluzową, jak i w modelu WRS. Zastosowanie preparatów charakteryzujących się zdolnością do uwalniania NO (NO-ASA, kombinacja NTG + ASA) prowadziło do powrotu poziomu GSH do wartości zbliżonych do tych obserwowanych w zdrowych tkankach, świadcząc o regeneracji puli GSH.

#### 4.2.3. Wpływ pentoksyfiliny i substancji modyfikujących produkcję tlenu azotu

Tabela XV przedstawia wpływ wzrastających dawek pentoksyfiliny (PTX), podawanych *i.p.*, na stężenie MDA + 4-HNE, aktywność SOD i poziom GSH w modelu WRS. Pentoksyfilina w dawkach 2,5 mg/kg i 5 mg/kg nie powodowała statystycznie istotnych zmian wymienionych parametrów w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymały placebo (0,9% NaCl). Statystycznie znamienne obniżenie stężenia MDA i 4-HNE, jak również wzrost poziomu GSH, obserwowane były przy dawce 10 mg/kg. Istotny statystycznie wzrost aktywności SOD był obserwowany już przy dawce 5 mg/kg, lecz dopiero dawka 10 mg/kg powodowała zwiększenie aktywności tego enzymu o ponad 100% w porównaniu z grupą placebo + WRS. Wartości wymienionych parametrów już się nie zmieniały, w sposób statystycznie znamienne, przy dalszym wzroście dawki PTX. 10 mg/kg PTX odpowiadało dawce przyjętej jako gastroprotecyjna na podstawie średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi (zob. tab. VI).

**Tabela XV.** Wpływ wzrastających dawek pentoksyfiliny (PTX) podawanych dootrzewnowo (*i.p.*) na poziom malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE), wyrażonego w nanomolach na gram tkanki (nmol/g), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), wyrażoną w jednostkach na gram tkanki (U/g) i na poziom zredukowanego glutationu (GSH), wyrażonego w mikromolach na gram tkanki ( $\mu\text{mol/g}$ ) w modelu 3,5-godzinnego stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	MDA + 4-HNE	SOD	GSH
Placebo + WRS	15,85 $\pm$ 1,27	245,20 $\pm$ 22,00	0,63 $\pm$ 0,02
PTX 2,5 mg/kg ( <i>i.p.</i> ) + WRS	15,82 $\pm$ 1,00	297,60 $\pm$ 24,30	0,62 $\pm$ 0,03
PTX 5 mg/kg ( <i>i.p.</i> ) + WRS	14,75 $\pm$ 3,20	330,00 $\pm$ 21,00*	0,66 $\pm$ 0,05
<b>PTX 10 mg/kg (<i>i.p.</i>) + WRS</b>	6,00 $\pm$ 0,70*	530,00 $\pm$ 25,00*	0,74 $\pm$ 0,01*
PTX 20 mg/kg ( <i>i.p.</i> ) + WRS	7,18 $\pm$ 0,85*	490,20 $\pm$ 17,50*	0,75 $\pm$ 0,02*

\* statystycznie znaczne zmniejszenie poziomu MDA + 4-HNE lub statystycznie istotne zwiększenie aktywności SOD albo poziomu GSH w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Rycina 16 przedstawia wpływ pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*), kombinacji 2 preparatów: L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) z pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), jak również sekwencji 3 substancji: L-argininy (50 mg/kg *i.g.*), L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) na stężenie malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA + 4-HNE) w błonie śluzowej żołądka. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących kombinację L-NNA i PTX na zdrową błonę śluzową (L-NNA + PTX bez WRS). Brak statystycznie znamienych różnic był też obserwowany w przypadku samodzielnego zastosowania PTX, a także sekwencji preparatów: L-arginina + L-NNA + PTX, zarówno na zdrową błonę śluzową (PTX bez WRS, L-arginina + L-NNA + PTX bez WRS), jak również przed stresem (PTX + WRS, L-arginina + L-NNA + PTX + WRS). Natomiast wykazano statystycznie znaczny wzrost poziomu MDA i 4-HNE w odniesieniu do grupy zwierząt, która otrzymała kombinację L-NNA i PTX w modelu stresowym (L-NNA + PTX + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znaczne obniżenie poziomu MDA + 4-HNE w grupach zwierząt, którym podano PTX lub sekwencję preparatów: L-arginina + L-NNA + PTX (PTX bez WRS, PTX + WRS, L-arginina + L-NNA + PTX bez WRS, L-arginina + L-NNA + PTX + WRS).

Wyniki przedstawione na rycinie 16 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka nasilenie procesu peroksydacji lipidów jest bardzo niskie i nie zmienia się po zastosowaniu PTX, kombinacji L-NNA z PTX, jak również sekwencji L-arginina + L-NNA + PTX. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny wzrost nasilenia peroksydacji lipidów. Zastosowanie PTX powodowało istotne zmniejszenie nasilenia procesu powstawania nadtlenków lipidów w modelu WRS (PTX + WRS). Dodanie L-NNA (L-NNA + PTX + WRS) doprowadziło do niewielkiej, choć statystycznie znaczniejszej, intensyfikacji procesu peroksydacji lipidów. Dodatkowe użycie L-argininy (L-arginina + L-NNA + PTX + WRS) hamowało ten proces.

Rycina 17 przedstawia aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka po zastosowaniu pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*), kombinacji 2 preparatów: L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) z pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), jak również sekwencji 3 substancji: L-argininy (50 mg/kg *i.g.*), L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej aktywność SOD utrzymuje się na wysokim poziomie. Stwierdzono statystycznie istotny wzrost aktywności SOD w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących pentoksyfilinę, zarówno na zdrową błonę śluzową (PTX bez WRS), jak również przed stresem (PTX + WRS), z tym że aktywność SOD w grupie PTX bez WRS była znamienne wyższa w porównaniu z grupą PTX + WRS. Istotne zwiększenie aktywności SOD zaobserwowano także wobec grup L-NNA + PTX bez WRS, jak również L-arginina + L-NNA + PTX bez WRS i L-arginina + L-NNA + PTX + WRS.

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znamienne podwyższenie aktywności SOD wobec grup, którym podano PTX osobno lub w kombinacji z innymi preparatami, z tym że aktywność tego enzymu w grupie L-NNA + PTX bez WRS była wyższa niż w przypadku L-NNA + PTX + WRS, a także użycie sekwencji 3 preparatów bez stresu (L-arginina + L-NNA + PTX bez WRS) skutkowało większą aktywacją SOD niż w modelu stresowym (L-arginina + L-NNA + PTX + WRS).

Wyniki przedstawione na rycinie 17 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka aktywność SOD osiąga wysoką wartość, świadczącą o sprawności mechanizmów zmiatania reaktywnych form tlenu. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny spadek aktywności SOD. Użycie PTX prowadziło do zwiększenia aktywności tego enzymu, nawet powyżej wartości obserwowanej w zdrowej tkance (placebo bez WRS). Dodanie L-NNA obniża, a dodatkowe użycie L-argininy podwyższa aktywność SOD.

Rycina 18 przedstawia wpływ pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) lub kombinacji L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) albo zestawu L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) z L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępach półgodzinnych, na poziom zredukowanego glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej stężenie GSH utrzymuje się na wysokim poziomie. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami, które otrzymały pentoksyfilinę, lub wymieniony zestaw 3 preparatów, na zdrową błonę śluzową (PTX bez WRS, L-arginina + L-NNA + PTX bez WRS).

Natomiast w przypadku użycia na zdrową, niepoddaną stresowi, błonę śluzową żołądka kombinacji L-NNA z PTX (L-NNA + PTX bez WRS) obserwowano statystycznie znamienne zmniejszenie poziomu GSH. Obniżenie stężenia GSH zostało stwierdzone we wszystkich grupach zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, PTX + WRS, L-NNA + PTX + WRS, L-arginina + L-NNA + PTX + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znamienne wzrost poziomu GSH w odniesieniu do grup zwierząt poddanych WRS, którym zaaplikowano PTX lub zestaw L-arginina + L-NNA + PTX. W przypadku zastosowania kombinacji L-NNA z PTX, przed WRS, nastąpiło statystycznie obniżenie stężenia GSH. Poziom GSH był także niższy w grupie L-NNA + PTX + WRS, w porównaniu z grupą PTX + WRS, jak również L-arginina + L-NNA + PTX + WRS.

Wyniki przedstawione na rycinie 18 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka poziom GSH osiąga wysoką wartość, świadczącą o sprawności mechanizmów zmiatania reaktywnych form tlenu. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje statystycznie istotny spadek poziomu GSH. Zastosowanie pentoksyfiliny przed stresem (PTX + WRS) powoduje wzrost stężenia GSH w kierunku wartości obserwowanych w zdrowej tkance (placebo bez WRS). Dodanie L-NNA (L-NNA + PTX + WRS) redukuje poziom GSH, natomiast dodatkowe użycie L-argininy (L-arginina + L-NNA + PTX + WRS) przywraca poziom GSH do wartości obserwowanych w grupie PTX + WRS.

Rycina 19 przedstawia stężenie produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) w błonie śluzowej żołądka, po zastosowaniu L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) lub L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) albo kombinacji tych substancji (L-arginina + L-NNA), podawanych w odstępach półgodzinnych. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących L-NNA, L-argininę lub kombinację tych 2 preparatów w wyżej wymienionych dawkach na zdrową błonę śluzową (L-NNA bez WRS, L-arginina bez WRS, L-arginina + L-NNA bez WRS). Stwierdzono natomiast statystycznie znamienne wzrost stężenia produktów peroksydacji lipidów w grupach zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, L-NNA + WRS, L-arginina + WRS, L-arginina + L-NNA + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znamienne podwyższenie poziomu produktów peroksydacji lipidów w grupie L-NNA + WRS. Statystycznie istotne obniżenie stężenia MDA + 4-HNE zostało wykazane w grupie L-arginina + L-NNA + WRS. Podanie L-argininy w dawce 50 mg/kg przed stresem (L-arginina + WRS) nie powodowało statystycznie istotnych różnic stężeń MDA i 4-HNE. W grupie L-arginina + L-NNA + WRS stwierdzono większy poziom peroksydacji lipidów w porównaniu z grupą L-arginina + L-NNA + PTX + WRS (ryc. 16).

Wyniki przedstawione na rycinie 19 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka nasilenie procesu peroksydacji lipidów jest bardzo niskie i nie zmienia się po podaniu L-NNA, L-argininy ani kombinacji L-argininy z L-NNA. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny wzrost nasilenia peroksydacji lipidów. Zastosowanie L-argininy w dawce 50 mg/kg (w modelu WRS) nie powoduje polepszenia parametrów stresu oksydacyjnego (brak statystycznie istotnego obniżenia poziomu MDA + 4-HNE).

Rycina 20 przedstawia aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka po zastosowaniu L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) lub L-argininy (50 mg/kg *i.g.*), albo

kombinacji tych substancji (L-arginina + L-NNA), podawanych w odstępach półgodzinnych. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej aktywność SOD utrzymuje się na wysokim poziomie. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic aktywności tego enzymu w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących L-NNA, L-argininę lub kombinację tych 2 preparatów w wyżej wymienionych dawkach na zdrową błonę śluzową (L-NNA bez WRS, L-arginina bez WRS, L-arginina + L-NNA bez WRS). Zaobserwowano statystycznie istotny spadek aktywności SOD w przypadku wszystkich grup zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, L-NNA + WRS, L-arginina + WRS, L-arginina + L-NNA + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono, iż zaaplikowanie wymienionych preparatów zwierzętom w modelu WRS (L-NNA + WRS, L-arginina + WRS, L-arginina + L-NNA + WRS) nie powoduje statystycznie znamiennych zmian aktywności SOD. W grupie L-NNA + WRS obserwuje się natomiast niższą aktywność SOD w porównaniu z grupą L-NNA + PTX + WRS (ryc. 17).

Przedstawione na rycinie 20 wyniki wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka aktywność SOD osiąga wysoką wartość, świadczącą o sprawności mechanizmów zmiatania reaktywnych form tlenu. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny spadek aktywności SOD. Zastosowanie L-argininy, jak i pozostałych preparatów w wymienionych dawkach i sekwencjach w modelu WRS nie powoduje statystycznie istotnej zmiany aktywności SOD, w porównaniu z grupą placebo + WRS.

Rycina 21 obrazuje poziom zredukowanego glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka po zaaplikowaniu L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) lub L-argininy (50 mg/kg *i.g.*), albo kombinacji tych substancji (L-arginina + L-NNA), podawanych w odstępach półgodzinnych. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej stężenie GSH utrzymuje się na wysokim poziomie. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami, które otrzymały L-argininę, lub wymieniony zestaw 2 preparatów, na zdrową błonę śluzową (L-arginina bez WRS, L-arginina + L-NNA bez WRS). Natomiast w przypadku użycia L-NNA na zdrową, niepoddaną stresowi błonę śluzową żołądka (L-NNA bez WRS), obserwowano statystycznie znamienne zmniejszenie poziomu GSH. Obniżenie stężenia GSH zostało stwierdzone we wszystkich grupach zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, L-NNA + WRS, L-arginina + WRS, L-arginina + L-NNA + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znamienny spadek poziomu GSH w odniesieniu do grupy L-NNA + WRS. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic po zastosowaniu L-argininy w wymienionej dawce ani też po kombinacji L-argininy z L-NNA w modelu stresowym (L-arginina + WRS, L-arginina + L-NNA + WRS).

Wyniki przedstawione na rycinie 21 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka poziom GSH osiąga wysoką wartość, świadczącą o sprawności mechanizmów zmiatania reaktywnych form tlenu. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje sta-



tystycznie istotny spadek poziomu GSH. Zastosowanie L-argininy w dawce 50 mg/kg (L-arginina + WRS) nie zwiększa poziomu GSH (w porównaniu z placebo + WRS).

W grupie L-arginina + L-NNA + WRS stężenie GSH nie różni się w sposób statystycznie istotny w odniesieniu do grupy placebo + WRS. Dopiero, jak pokazano na rycinie 18, dodanie PTX (L-arginina + L-NNA + PTX + WRS) powoduje wzrost puli GSH w porównaniu z grupą zwierząt otrzymujących placebo i poddanych stresowi (placebo + WRS).

#### 4.2.4. Efekty podawania inhibitorów cyklooksygenazy

Tabela XVI przedstawia wpływ wzrastających dawek SC-560 (selektywnego inhibitora COX-1), podawanych *i.g.*, na stężenie MDA + 4-HNE, aktywność SOD i poziom GSH w modelu WRS. SC-560 w zakresie dawek od 1 mg/kg do 10 mg/kg nie powodowało statystycznie istotnych zmian stężenia MDA + 4-HNE ani aktywności SOD, w porównaniu z wartościami obserwowanymi w grupie placebo + WRS. Statystycznie znamiennej redukcji puli GSH została stwierdzona przy 5 mg/kg, co odpowiadało dawce SC-560 przyjętej jako gastroprotekcja na podstawie średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi (zob. tab. VII). Dalszy wzrost dawki SC-560 nie powodował już znamiennej większej obniżenia stężenia GSH w błonie śluzowej żołądka.

**Tabela XVI.** Wpływ wzrastających dawek SC-560 podawanych dożołądkowo (*i.g.*) na poziom malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE), wyrażonego w nanomolach na gram tkanki (nmol/g), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), wyrażoną w jednostkach na gram tkanki (U/g) i na poziom zredukowanego glutationu (GSH), wyrażonego w mikromolach na gram tkanki ( $\mu\text{mol/g}$ ) w modelu 3,5-godzinne stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	MDA + 4-HNE	SOD	GSH
Placebo + WRS	15,85 ± 1,27	245,20 ± 22,00	0,63 ± 0,02
SC-560 1 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,90 ± 1,00	251,25 ± 18,30	0,62 ± 0,03
SC-560 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,79 ± 1,85	264,70 ± 28,50	0,60 ± 0,04
<b>SC-560 5 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	15,70 ± 1,30	290,00 ± 35,00	0,55 ± 0,03*
SC-560 10 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,89 ± 1,55	280,20 ± 40,26	0,57 ± 0,02*

\* statystycznie znamienne zmniejszenie poziomu MDA + 4-HNE lub statystycznie istotne zwiększenie aktywności SOD lub poziomu GSH w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Tabela XVII przedstawia wpływ wzrastających dawek rofekoksybu (selektywnego inhibitora COX-2), podawanych *i.g.*, na stężenie MDA + 4-HNE, aktywność SOD i poziom GSH w modelu WRS. Rofekoksyb, w zakresie dawek od 2,5 mg/kg do 20 mg/kg, nie powodował statystycznie istotnych zmian stężenia MDA + 4-HNE ani aktywności SOD, w porównaniu z wartościami obserwowanymi w grupie placebo + WRS. Statystycznie znamiennej redukcji puli GSH została stwierdzona przy 10 mg/kg, co odpowiadało dawce rofekoksybu przyjętej jako gastroprotekcja na podstawie średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi (zob. tab. VIII). Dalszy wzrost dawki rofekoksybu nie powodował już znamiennej większej obniżenia stężenia GSH w błonie śluzowej żołądka.

**Tabela XVII.** Wpływ wzrastających dawek rofekoksybu podawanych dożołądkowo (*i.g.*) na poziom malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE), wyrażonego w nanomolach na gram tkanki (nmol/g), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), wyrażoną w jednostkach na gram tkanki (U/g) i na poziom zredukowanego glutationu (GSH), wyrażonego w mikromolach na gram tkanki ( $\mu\text{mol/g}$ ) w modelu 3,5-godzinnego stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	MDA + 4-HNE	SOD	GSH
Placebo + WRS	15,85 ± 1,27	245,20 ± 22,00	0,63 ± 0,02
Rofekoksyb 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,86 ± 1,35	249,75 ± 21,00	0,61 ± 0,03
Rofekoksyb 5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,84 ± 1,48	271,00 ± 46,00	0,59 ± 0,04
<b>Rofekoksyb 10 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	15,80 ± 0,60	280,00 ± 50,00	0,52 ± 0,03*
Rofekoksyb 20 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,81 ± 0,94	278,66 ± 43,50	0,51 ± 0,02*

\* statystycznie znamienne zwiększenie poziomu MDA + 4-HNE lub statystycznie istotne zmniejszenie aktywności SOD lub poziomu GSH w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Tabela XVIII przedstawia wpływ wzrastających dawek resveratrolu (preferencyjnego inhibitora COX-1 i zmiatacza wolnych rodników), podawanych *i.g.*, na stężenie MDA + 4-HNE, aktywność SOD i poziom GSH w modelu WRS. Resveratrol w zakresie badanych dawek nie powodował statystycznie istotnych zmian w aktywności SOD w porównaniu z placebo + WRS. Dawki 2,5 mg/kg i 5 mg/kg nie powodowały statystycznie znamienych różnic w stężeniach MDA + 4-HNE oraz GSH. Statystycznie znamienne obniżenie poziomu MDA + 4-HNE, świadczące o spadku nasilenia oksydacyjnego uszkodzenia tkanek, jak również wzrost puli GSH, były obserwowane przy dawce 10 mg/kg. Odpowiadało to dawce resveratrolu, przyjętej jako gastroprotekcyjna, na podstawie średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi (zob. tab. IX). Dalszy wzrost dawki resveratrolu nie powodował już statystycznie istotnego zmniejszenia stężenia MDA + 4-HNE ani wzrostu puli GSH w błonie śluzowej żołądka.

**Tabela XVIII.** Wpływ wzrastających dawek resveratrolu podawanych dożołądkowo (*i.g.*) na poziom malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE), wyrażonego w nanomolach na gram tkanki (nmol/g), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), wyrażoną w jednostkach na gram tkanki (U/g) i na poziom zredukowanego glutationu (GSH), wyrażonego w mikromolach na gram tkanki ( $\mu\text{mol/g}$ ) w modelu 3,5-godzinnego stresu wodnego (WRS)

Grupa badana	MDA + 4-HNE	SOD	GSH
Placebo + WRS	15,85 ± 1,27	245,20 ± 22,00	0,63 ± 0,02
Resveratrol 2,5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	15,76 ± 1,42	246,55 ± 21,10	0,64 ± 0,01
Resveratrol 5 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	14,01 ± 3,25	271,00 ± 19,00	0,69 ± 0,06
<b>Resveratrol 10 mg/kg (<i>i.g.</i>) + WRS</b>	9,70 ± 0,30*	292,00 ± 34,00	0,74 ± 0,04*
Resveratrol 20 mg/kg ( <i>i.g.</i> ) + WRS	10,23 ± 0,96*	293,12 ± 27,96	0,75 ± 0,12*

\* statystycznie znamienne zmniejszenie poziomu MDA + 4-HNE lub statystycznie istotne zwiększenie aktywności SOD lub poziomu GSH w porównaniu z grupą kontrolną (placebo + WRS)

Rycina 22 przedstawia wpływ inhibitorów COX: aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), SC-560 w dawce 5 mg/kg (*i.g.*), resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*) na stężenie malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA + 4-HNE) w błonie

śluzowej żołądka. Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt, u których zastosowano SC-560, resveratrol lub rofekoksyb na zdrową błonę śluzową (SC-560 bez WRS, resveratrol bez WRS, rofekoksyb bez WRS). Natomiast wykazano statystycznie znamienne wzrost poziomu MDA i 4-HNE w odniesieniu do grupy zwierząt, którym zaaplikowano aspirynę na zdrową błonę śluzową (ASA bez WRS), jak również w odniesieniu do grup zwierząt otrzymujących preparaty i poddanych WRS (placebo + WRS, ASA + WRS, SC-560 + WRS, resveratrol + WRS, rofekoksyb + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami otrzymującymi SC-560 lub rofekoksyb, przed rozpoczęciem WRS (SC-560 + WRS, rofekoksyb + WRS). Natomiast statystycznie znamienne obniżenie stężeń MDA + 4-HNE obserwowano w grupach poddanych WRS, którym wcześniej zaaplikowano aspirynę lub resveratrol (ASA + WRS, resveratrol + WRS).

Wyniki przedstawione na rycinie 22 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka nasilenie procesu peroksydacji lipidów jest bardzo niskie i nie zmienia się po zastosowaniu SC-560, resveratrolu lub rofekoksybu w wyżej wymienionych dawkach. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny wzrost nasilenia peroksydacji lipidów. Podanie resveratrolu przed rozpoczęciem WRS prowadziło do redukcji poziomu MDA i 4-HNE, będącej wyrazem słabszego generowania nadtlenu lipidów niż obserwowane w grupie placebo + WRS. Zastosowanie selektywnych inhibitorów COX-1 (SC-560) lub COX-2 (rofekoksyb) w modelu WRS nie prowadziło do zmniejszenia intensywności procesu peroksydacji lipidów (generowanie MDA i 4-HNE było porównywalne z obserwowanym w grupie placebo + WRS). Użycie nieselektywnego inhibitora COX, jakim jest aspiryna (ASA 40 mg/kg *i.g.*), na zdrową błonę śluzową żołądka (ASA bez WRS) powodowało nasilenie procesu peroksydacji lipidów w porównaniu ze zdrową tkanką (placebo bez WRS). Natomiast zastosowanie ASA (40 mg/kg), w modelu stresowym (ASA + WRS), prowadziło do spadku stężenia produktów peroksydacji lipidów w porównaniu z grupą zwierząt poddanych WRS, które otrzymały placebo (placebo + WRS).

Rycina 23 przedstawia aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka, po zastosowaniu inhibitorów COX: aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*) lub rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej aktywność SOD utrzymuje się na wysokim poziomie. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic aktywności tego enzymu w porównaniu z grupami zwierząt otrzymujących SC-560, resveratrol lub rofekoksyb, w wyżej wymienionych dawkach, na zdrową błonę śluzową (SC-560 bez WRS, resveratrol bez WRS, rofekoksyb bez WRS). Jedynie zastosowanie ASA (40 mg/kg) na zdrową błonę śluzową prowadziło do redukcji aktywności SOD (ASA bez WRS). Staty-

stycznie istotny spadek aktywności SOD zaobserwowano także w przypadku wszystkich grup zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, ASA + WRS, SC-560 + WRS, resveratrol + WRS, rofekoksyb + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono, że użycie wymienionych substancji w modelu WRS (ASA + WRS, SC-560 + WRS, resveratrol + WRS, rofekoksyb + WRS) nie powoduje statystycznie znamiennych zmian aktywności SOD.

Przedstawione na rycinie 23 wyniki wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka aktywność SOD osiąga wysoką wartość, świadczącą o sprawności mechanizmów zmiatania reaktywnych form tlenu. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny spadek aktywności SOD. Zastosowanie wymienionych inhibitorów COX, w modelu WRS, nie powoduje statystycznie istotnej zmiany aktywności SOD w porównaniu z grupą placebo + WRS.

Rycina 24 ukazuje poziom zredukowanego glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka, po zaaplikowaniu inhibitorów COX: aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*) lub rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). W grupie tej stężenie GSH utrzymuje się na wysokim poziomie. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami, które otrzymały SC-560, resveratrol lub rofekoksyb na zdrową błonę śluzową (SC-560 bez WRS, resveratrol bez WRS, rofekoksyb bez WRS). Natomiast w przypadku użycia na zdrową, niepoddaną stresowi błonę śluzową żołądka, ASA w dawce 40 mg/kg (ASA bez WRS) obserwowano statystycznie znamienne zmniejszenie poziomu GSH. Obniżenie stężenia GSH zostało stwierdzone we wszystkich grupach zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, ASA + WRS, SC-560 + WRS, resveratrol + WRS, rofekoksyb + WRS).

W celu dalszej analizy przyjęto za punkt odniesienia grupę placebo + WRS. Stwierdzono statystycznie znamienny wzrost poziomu GSH w odniesieniu do grupy zwierząt poddanych WRS, którym zaaplikowano resveratrol (resveratrol + WRS), natomiast w przypadku użycia rofekoksybu (rofekoksyb + WRS) lub SC-560 (SC-560 + WRS) nastąpiło statystycznie istotne obniżenie stężenia GSH. Stężenie GSH utrzymywało się na poziomie rejestrowanym w grupie placebo + WRS po zastosowaniu aspiryny (ASA + WRS).

Wyniki przedstawione na rycinie 24 wskazują, że w zdrowej błonie śluzowej żołądka poziom GSH osiąga wysoką wartość, świadczącą o sprawności mechanizmów zmiatania reaktywnych form tlenu. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje statystycznie istotny spadek poziomu GSH. Zastosowanie inhibitora COX-1 (SC-560) lub COX-2 (rofekoksyb) przed stresem (SC-560 + WRS, rofekoksyb + WRS) powoduje statystycznie znamiennej redukcję puli GSH. Natomiast użycie przed stresem resveratrolu (resveratrol + WRS), który obok właściwości preferencyjnego inhibitora COX-1 wykazuje aktywność zmiatacza wolnych rodników tlenowych, prowadzi do wzrostu poziomu GSH.

#### 4.2.5. Wpływ odnerwienia kapsaicynowego

Rycina 25 przedstawia wpływ SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*), stosowanych samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*), na stężenie produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) w błonie śluzowej żołądka zwierząt, u których zastosowano procedurę zniszczenia włókien C przez wysokie dawki kapsaicyny (odnerwienie kapsaicynowe). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt, z zachowanymi włóknami C, otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS).

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, niepoddanych WRS, które otrzymały wyżej wymienione preparaty (odnerwienie kapsaicynowe + placebo bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb bez WRS). Stwierdzono natomiast statystycznie znamienne wzrost stężenia produktów peroksydacji lipidów w grupach zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS).

Przyjmując za punkt odniesienia grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych WRS (placebo + WRS), stwierdza się statystycznie znamienne wzrost poziomu MDA + 4-HNE w grupach zwierząt ze zniszczonymi włóknami C, którym podano placebo lub SC-560, albo rofekoksyb przed rozpoczęciem WRS (odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb + WRS). Nie stwierdza się statystycznie istotnych różnic w przypadku użycia CGRP u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, w kombinacji z wymienionymi preparatami (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS). Zmniejszenie stężenia MDA + 4-HNE obserwuje się w stosunku do odnerwionych grup poddanych WRS, które otrzymały resveratrol samodzielnie lub razem z CGRP (odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS). Użycie CGRP u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym w kombinacji z wymienionymi preparatami (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS) prowadziło do redukcji stężenia produktów peroksydacji lipidów w odniesieniu do odpowiednich grup, z zastosowanym preparatem, u zwierząt odnerwionych, poddanych WRS (np. odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS – niższe stężenie produktów peroksydacji lipidów niż w przypadku odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 + WRS itd.).

Wyniki przedstawione na rycinie 25 wskazują, że w błonie śluzowej żołądka, niepoddanej WRS, nasilenie procesu peroksydacji lipidów jest bardzo niskie i nie zmienia się po dokonaniu odnerwienia kapsaicynowego, ani po podaniu wymienionych inhibitorów COX, u zwierząt odnerwionych bez WRS. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny wzrost nasilenia peroksydacji lipidów, a dodatkowe zniszczenie włókien C jeszcze bardziej nasila ten wzrost. Dodatkowe użycie u zwierząt odnerwionych i poddanych stresowi SC-560 lub rofekoksybu utrzymuje nasilenie peroksydacji lipidów na poziomie grupy odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS. Jedynie zastosowanie resveratrolu prowadziło do osłabienia procesu powstawania nadtlenków lipidów u zwierząt odnerwionych w modelu WRS. Zastosowanie CGRP, będącego głównym mediatorem włókien C w żołądku, zmniejsza nasilenie peroksydacji lipidów do poziomu obserwowanego u zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych stresowi (WRS), jak przedstawiono na rycinie 22 (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS do poziomu placebo + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS do poziomu SC-560 + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS do poziomu resveratrol + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS do poziomu rofekoksyb + WRS).

Rycina 26 przedstawia wpływ SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*), stosowanych samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*), na aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka u zwierząt, u których zastosowano procedurę zniszczenia włókien C przez wysokie dawki kapsaicyny (odnerwienie kapsaicynowe). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic aktywności SOD w porównaniu z grupami zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, niepoddanych WRS, które otrzymały wyżej wymienione preparaty (odnerwienie kapsaicynowe + placebo bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb bez WRS). Stwierdzono natomiast statystycznie znamienne spadki aktywności SOD w grupach zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS).

Przyjmując za punkt odniesienia grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C poddanych WRS (placebo + WRS), stwierdza się statystycznie znamienne spadki aktywności SOD w grupach zwierząt ze zniszczonymi włóknami C, którym podano placebo lub SC-560, albo rofekoksyb przed rozpoczęciem WRS (odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb + WRS). W odniesieniu do grupy odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb + WRS redukcja aktywności SOD była nawet znamienne niższa w porównaniu z grupą odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS. W przypadku użycia CGRP u zwierząt

z odnerwieniem kapsaicynowym, w kombinacji z wymienionymi preparatami (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS), nie stwierdza się statystycznie istotnych różnic w aktywności SOD w porównaniu z grupą placebo + WRS. Wzrost aktywności SOD w odniesieniu do placebo + WRS jest obserwowany w grupach odnerwionych i poddanych WRS zwierząt, które otrzymały resveratrol samodzielnie lub razem z CGRP (odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS). Użycie CGRP u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym w kombinacji z wymienionymi preparatami (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS) prowadziło do podwyższenia aktywności SOD w odniesieniu do odpowiednich grup, z zastosowanym preparatem, u zwierząt odnerwionych, poddanych WRS (np. odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS – wyższa aktywność SOD niż w przypadku odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 + WRS itd.).

Wyniki przedstawione na rycinie 26 wskazują, że w błonie śluzowej żołądka, niepoddanej WRS, aktywność SOD osiąga wysoką wartość i nie zmienia się po dokonaniu odnerwienia kapsaicynowego, ani po podaniu wymienionych inhibitorów COX, u zwierząt odnerwionych bez WRS. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje statystycznie znamiennej redukcję aktywności SOD, a dodatkowe zniszczenie czuciowych włókien aferentnych prowadzi do dalszej redukcji aktywności tego enzymu. Dodatkowe użycie u zwierząt odnerwionych rofekoksybu jeszcze bardziej obniżało aktywność SOD. Jedynie zastosowanie resveratrolu prowadziło do wzrostu sprawności mechanizmów antyoksydacyjnych (wzrost aktywności SOD), u zwierząt odnerwionych w modelu WRS. Zastosowanie CGRP, będącego głównym mediatorem włókien C w żołądku, zwiększa aktywność SOD do poziomu obserwowanego u zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych stresowi (WRS), jak przedstawiono na rycinie 23 (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS do poziomu placebo + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS do poziomu SC-560 + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS do poziomu resveratrol + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS do poziomu rofekoksyb + WRS).

Rycina 27 przedstawia wpływ inhibitorów COX: SC-560 w dawce 5 mg/kg (*i.g.*), resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*), stosowanych samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*), na poziom zredukowanego glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka u zwierząt, u których zastosowano procedurę zniszczenia włókien C przez wysokie dawki kapsaicyny (odnerwienie kapsaicynowe). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic poziomu GSH w porównaniu z grupami zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, niepoddanych WRS, które otrzymały wyżej wymienione preparaty (odnerwienie kapsaicynowe + placebo bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol bez WRS, odnerwienie

kapsaicynowe + rofekoksyb bez WRS). Stwierdzono natomiast statystycznie znamienne spadki poziomu GSH w grupach zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS).

Przyjmując za punkt odniesienia grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych WRS (placebo + WRS), stwierdza się statystycznie znamienne spadki poziomu GSH w grupach zwierząt ze zniszczonymi włóknami C, którym podano placebo lub SC-560 albo rofekoksyb przed rozpoczęciem WRS (odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + rofekoksyb + WRS). Zastosowanie resveratrolu u zwierząt odnerwionych i poddanych stresowi (odnerwienie kapsaicynowe + resveratrol + WRS) prowadziło do wzrostu stężenia GSH. W przypadku użycia CGRP u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, w kombinacji z SC-560 lub rofekoksybem (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS) obserwuje się znamiennej redukcję puli GSH, a w kombinacji z resveratrolem (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS) wzrost poziomu GSH, w porównaniu z grupą placebo + WRS. Użycie CGRP u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, w kombinacji z wymienionymi preparatami (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS), prowadziło do podwyższenia poziomu GSH w odniesieniu do odpowiednich grup, z zastosowanym preparatem, u zwierząt odnerwionych i poddanych WRS (np. odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS – wyższy poziom GSH niż w przypadku odnerwienia kapsaicynowego + SC-560 + WRS itd.).

Wyniki przedstawione na rycinie 27 wskazują, że w błonie śluzowej żołądka, niepoddanej WRS, stężenie GSH osiąga wysoki poziom, który nie zmienia się po dokonaniu odnerwienia kapsaicynowego ani po podaniu wymienionych inhibitorów COX u zwierząt odnerwionych bez WRS. Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje statystycznie znamiennej redukcję puli GSH, a dodatkowe zniszczenie włókien C prowadzi do dalszego obniżenia poziomu GSH. Dodatkowe użycie u zwierząt odnerwionych i poddanych stresowi SC-560 lub rofekoksybu utrzymuje stężenie GSH na poziomie grupy odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS. Jedynie zastosowanie resveratrolu prowadziło do wzrostu puli GSH u zwierząt odnerwionych w modelu WRS. Zastosowanie CGRP, będącego głównym mediatorem włókien C w żołądku, zwiększa stężenie GSH do poziomu obserwowanego u zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych stresowi (WRS), jak przedstawiono na rycinie 24 (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS do poziomu placebo + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + SC-560 + WRS do poziomu SC-560 + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + resveratrol + WRS do poziomu resveratrol + WRS; odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + rofekoksyb + WRS do poziomu rofekoksyb + WRS).

Rycina 28 przedstawia wpływ pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*), aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), jak również obu tych substancji podanych łącznie (w odstępie półgodzin-



nym), stosowanych samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  *i.p.*), na stężenie produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) w błonie śluzowej żołądka u zwierząt, u których zastosowano procedurę zniszczenia włókien C przez wysokie dawki kapsaicyny (odnerwienie kapsaicynowe). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupami zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, niepoddanych WRS, które otrzymały placebo, pentoksyfilinę lub kombinację pentoksyfiliny z aspiryną (odnerwienie kapsaicynowe + placebo bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA bez WRS); jedynie w przypadku użycia aspiryny (odnerwienie kapsaicynowe + ASA bez WRS) poziom MDA + 4-HNE był podwyższony w sposób statystycznie istotny. Statystycznie znamienne wzrost stężenia produktów peroksydacji lipidów został stwierdzony w grupach zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA + WRS), z wyjątkiem 2 grup, którym podano CGRP (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS), gdzie tego wzrostu nie zaobserwowano.

Przyjmując za punkt odniesienia grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych WRS (placebo + WRS), stwierdza się statystycznie znamienne wzrost poziomu MDA + 4-HNE w grupach zwierząt ze zniszczonymi włóknami C, którym podano placebo przed rozpoczęciem WRS (odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS). Nie stwierdza się statystycznie istotnych różnic w odniesieniu do grup odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS i odnerwienie kapsaicynowe + ASA + WRS. Zmniejszenie stężenia MDA + 4-HNE obserwuje się w stosunku do odnerwionych grup, poddanych WRS, które otrzymały pentoksyfilinę, kombinację pentoksyfiliny z aspiryną, samodzielnie lub razem z CGRP (odnerwienie kapsaicynowe + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS). Użycie CGRP u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, w kombinacji z wymienionymi preparatami (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS) prowadziło do redukcji stężenia produktów peroksydacji lipidów w odniesieniu do odpowiednich grup, z zastosowanym preparatem, u zwierząt odnerwionych, poddanych WRS (np. odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS – niższe stężenie produktów peroksydacji lipidów niż w przypadku odnerwienie kapsaicynowe + PTX + WRS itd.).

Wyniki przedstawione na rycinie 28 wskazują, że w błonie śluzowej żołądka, niepoddanej WRS, nasilenie procesu peroksydacji lipidów jest bardzo niskie i nie zmienia się po dokonaniu odnerwienia kapsaicynowego, ani po podaniu PTX, lub kombinacji PTX + ASA u zwierząt odnerwionych, bez WRS (wyjątek stanowiło użycie ASA, prowadzące do niewielkiego, choć statystycznie znamiennego, zwiększenia powstawania

nadtlenków lipidów). Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje istotny wzrost nasilenia peroksydacji lipidów, a dodatkowe zniszczenie aferentnych włókien czuciowych typu C jeszcze bardziej nasila ten wzrost. Dodatkowo użycie u zwierząt odnerwionych i poddanych stresowi, PTX albo ASA, samodzielnie lub w kombinacji, prowadziło do osłabienia procesu powstawania nadtlenków lipidów, z tym że w przypadku PTX i zestawu PTX + ASA redukcja MDA + 4-HNE była większa niż ta obserwowana w grupie zwierząt z zachowanymi włóknami C w modelu stresowym (placebo + WRS). Zastosowanie CGRP, będącego głównym mediatorem włókien C w żołądku, zmniejsza nasilenie peroksydacji lipidów nawet do poziomu obserwowanego u szczurów niepoddanych WRS (placebo bez WRS) w grupach: odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS i odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS.

Rycina 29 przedstawia wpływ pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*), aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), jak również obu tych substancji podanych łącznie (w odstępie półgodzinnym), stosowanych samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*), na aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka u zwierząt, u których zastosowano procedurę zniszczenia włókien C przez wysokie dawki kapsaicyny (odnerwienie kapsaicynowe). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic aktywności SOD w porównaniu z grupą zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, niepoddanych WRS, która otrzymała wyżej wymienione preparaty (odnerwienie kapsaicynowe + placebo bez WRS).

Stwierdzono natomiast statystycznie znamienne wzrost aktywności SOD w grupach zwierząt odnerwionych, którym zaaplikowano pentoksyfilinę samodzielnie lub z aspiryną (odnerwienie kapsaicynowe + PTX bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA bez WRS). Użycie zaś aspiryny (odnerwienie kapsaicynowe + ASA bez WRS) prowadziło do redukcji aktywności tego enzymu.

W przypadku zastosowania modelu WRS aktywność SOD w grupach: odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + ASA + WRS jest znamienne niższa; w grupach: odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS i odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS jest znamienne wyższa; w grupach: odnerwienie kapsaicynowe + PTX + WRS oraz odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA + WRS utrzymuje się na poziomie obserwowanym w grupie placebo bez WRS.

Przyjmując za punkt odniesienia grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych WRS (placebo + WRS), stwierdza się statystycznie znamienne spadki aktywności SOD w grupie zwierząt ze zniszczonymi włóknami C, którym podano placebo (odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS). Wzrost aktywności SOD został zaobserwowany w odniesieniu do odnerwionych grup, u których zastosowano PTX albo kombinację PTX + ASA, samodzielnie lub razem z CGRP (odnerwienie kapsaicynowe + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS). W grupach: odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicyno-

we + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + ASA + WRS, aktywność SOD nie różniła się w sposób statystycznie istotny w porównaniu z placebo + WRS. Użycie CGRP u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, w kombinacji z wymienionymi preparatami (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS) prowadziło do zwiększenia aktywności SOD w odniesieniu do odpowiednich grup, z zastosowanym preparatem, u zwierząt odnerwionych, poddanych WRS (np. odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS – wyższa aktywność SOD niż w przypadku odnerwienia kapsaicynowego + PTX + WRS itd.).

Wyniki przedstawione na rycinie 29 wskazują, że w błonie śluzowej żołądka, nie-poddanej WRS, aktywność SOD osiąga wysoką wartość i nie zmienia się po dokonaniu odnerwienia kapsaicynowego ani po podaniu aspiryny, zwiększa się natomiast skutek zastosowania pentoksyfiliny (samodzielnie lub w kombinacji z aspiryną). Poddanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje statystycznie znaczącą redukcję aktywności SOD, a dodatkowe zniszczenie czuciowych włókien aferentnych prowadzi do dalszej redukcji aktywności tego enzymu. Zastosowania pentoksyfiliny, samodzielnie lub w kombinacji z aspiryną (odnerwienie kapsaicynowe + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA + WRS), przywraca aktywność SOD do wartości obserwowanych w zdrowej błonie śluzowej (placebo bez WRS), a dodatkowe użycie CGRP (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS) zwiększa aktywność tego enzymu nawet powyżej poziomu obserwowanego w zdrowej tkance.

Rycina 30 przedstawia wpływ pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*), aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), jak również obu tych substancji podanych łącznie (w odstępie półgodzinnym), stosowanych samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*), na poziom zredukowanego glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka u zwierząt, u których zastosowano procedurę zniszczenia włókien C przez wysokie dawki kapsaicyny (odnerwienie kapsaicynowe). Wymienione preparaty podawano zwierzętom niepoddanym stresowi (WRS), jak również na 30 minut przed rozpoczęciem WRS.

Za punkt odniesienia przyjęto grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, otrzymujących placebo na zdrową błonę śluzową żołądka (placebo bez WRS). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic poziomu GSH w porównaniu z grupami zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, niepoddanych WRS, które otrzymały wyżej wymienione preparaty (odnerwienie kapsaicynowe + placebo bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX bez WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA bez WRS), z wyjątkiem aspiryny (odnerwienie kapsaicynowe + ASA bez WRS), która powodowała zmniejszenie stężenia GSH. Stwierdzono natomiast statystycznie znaczący spadek poziomu GSH w grupach zwierząt poddanych stresowi (placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS).

Przyjmując za punkt odniesienia grupę zwierząt z zachowanymi włóknami C, poddanych WRS (placebo + WRS), stwierdza się statystycznie znamienne spadki poziomu GSH w grupach zwierząt ze zniszczonymi włóknami C, którym podano placebo lub aspirynę przed rozpoczęciem WRS (odnerwienie kapsaicynowe + placebo + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + ASA + WRS). Zastosowanie pentoksyfiliny u zwierząt odnerwionych i poddanych stresowi (odnerwienie kapsaicynowe + PTX + WRS) prowadziło do wzrostu stężenia GSH. Nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian poziomu GSH wtedy, gdy pentoksyfilina i aspiryna zostały użyte łącznie (odnerwienie kapsaicynowe + PTX + ASA + WRS). W przypadku użycia CGRP u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, w kombinacji z aspiryną lub zestawem pentoksyfilina + aspiryna (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + ASA + WRS, odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + ASA + WRS), nie obserwuje się zmian puli GSH, natomiast w kombinacji z pentoksyfiliną (odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + PTX + WRS) stwierdzano wzrost poziomu GSH w porównaniu z grupą placebo + WRS. Zaobserwowano także, iż stężenie GSH w grupie odnerwienie kapsaicynowe + CGRP + ASA + WRS jest wyższe w sposób statystycznie znamienne w porównaniu z grupą odnerwienie kapsaicynowe + ASA + WRS.

Wyniki przedstawione na rycinie 30 wskazują, że w błonie śluzowej żołądka, niepoddanej WRS, stężenie GSH osiąga wysoki poziom, który nie zmienia się po dokonaniu odnerwienia kapsaicynowego ani po podaniu wymienionych preparatów (z wyjątkiem samej aspiryny, która obniża poziom GSH) u zwierząt odnerwionych, bez WRS. Podanie badanych zwierząt stresowi (WRS) powoduje statystycznie znamiennej redukcję puli GSH, a dodatkowe zniszczenie włókien C prowadzi do dalszego obniżenia poziomu GSH. Zastosowanie pentoksyfiliny w grupie zwierząt odnerwionych i poddanych stresowi prowadziło do wzrostu puli GSH.



## 5. DYSKUSJA

Przemiany wolnych rodników tlenowych i ich wysoka reaktywność, prowadząca do chemicznej modyfikacji struktur komórkowych, odgrywają istotną rolę w patogenezie wielu chorób, zwłaszcza powstałych z niedokrwienia i reperfuzji w narządach wyposażonych w tętnice o charakterze naczyń końcowych, o stosunkowo słabo rozwiniętym krążeniu obocznym, jak serce, mózg, nerki [126, 144, 186, 187, 196, 197, 200, 202]. Sytuacja taka nie zachodzi w przypadku żołądka, który może być zaopatrywany w krew z różnych sieci tętniczych, tworzących między sobą zespolenia [188]. Opracowanie przez Wadę i współpracowników [255] eksperymentalnego modelu wywoływania uszkodzeń ischemicznych w żołądku dało możliwość zbadania patogenyzy niedokrwiennych uszkodzeń także w tym narządzie [54, 57, 220]. W modelu tym (ischemia–reperfuzja) głównym źródłem uszkodzeń tkankowych jest aktywność wolnych rodników tlenowych (szczegóły tych zjawisk zostały opisane we wstępie, podrozdział 1.2).

Jak wspomniano we wstępie (podrozdział 1.6), w naszych dotychczasowych badaniach zostało stwierdzone, iż w modelu 3,5-godzinnego termicznego stresu wodnego (WRS) istotną rolę w powstawaniu uszkodzeń błony śluzowej żołądka odgrywa metabolizm oksydacyjny, podobnie jak w modelu ischemia–reperfuzja [182, 184–186, 191]. Podstawą do wyciągnięcia takich wniosków był pomiar kluczowych biologicznych efektów tkankowego działania reaktywnych form tlenu, w postaci stężenia głównych produktów metabolicznej degradacji nadtlenu lipidów (MDA i 4-HNE), a także zasadniczych czynników odpowiedzialnych za proces zmiatania wolnych rodników tlenowych i usuwania skutków ich działania (aktywność SOD, poziom GSH).

Liczne badania potwierdziły użyteczność pomiaru malonyldialdehydu (MDA), którego podwyższony poziom w różnych tkankach był pośrednim wskaźnikiem generowania reaktywnych metabolitów tlenu [92, 99, 139, 140, 149, 192, 233, 254]. Najbardziej znanym i często stosowanym sposobem oznaczania stężenia MDA jest metoda na podstawie reakcji z kwasem tiobarbiturowym (*thiobarbituric acid* – TBA). W wyniku tej reakcji powstają związki chemiczne o różowej barwie (*thiobarbituric acid reactive substances* – TBARS), których stężenie jest mierzone spektrofotometrycznie [139, 143, 145, 192, 207, 211, 236]. Metoda ta mimo swej czułości jest jednak niespecyficzna, gdyż z TBA reagują także związki chemiczne, będące składnikami tkanki łącznej (kwas sjałowy, polisacharydy), jąder komórkowych (produkty degradacji dezoksyrybozy), jak również bilirubina [9, 16, 148]. Dlatego też, w celu uniknięcia błędów wynikających ze specyfiki metody z TBA, w mojej pracy została zastosowana metoda opierająca się na

reakcji z N-metylfenylindolem, w której oprócz MDA oznaczany jest również kolejny istotny produkt peroksydacji lipidów – 4-hydroksynonenal (4-HNE).

4-HNE stał się w ostatnich latach obiektem zainteresowania badaczy ze względu na swoje właściwości chemiczne (opisane we wstępie – podrozdział 1.3) i wynikające z nich możliwości wpływu na funkcjonowanie komórek. Dianzani [90] uznał 4-HNE za główny produkt peroksydacji lipidów, który jako pierwszy został przebadany pod kątem swojej toksyczności. Toksyczność ta wiąże się ze względną trwałością tego związku i łatwością dyfuzji, które sprawiają, że 4-HNE może być odpowiedzialny za uszkodzenia w miejscach odległych od rejonu jego powstawania. Dianzani [90] uznał zależność skutków działania 4-HNE od jego stężenia tkankowego. Wysokie stężenia 4-HNE, rzędu 10 nmol/g tkanki, lub wyższe, powodują silne zahamowanie aktywności enzymów komórkowych. Natomiast 4-HNE w niskich stężeniach, poniżej 1 nmol/g tkanki, pełni funkcje sygnałowe, regulując podział i różnicowanie komórek. W modelu stresowym (WRS), będącym obiektem moich badań, stężenia produktów peroksydacji lipidów osiągały wartości 15–16 nmol/g tkanki, tak więc mogą być one rozważane jako miara cytotoksycznego działania na tkanki metabolitów nadtlenków lipidów.

Siems i Grune [234] prowadzili badania dotyczące metabolizmu 4-HNE w komórkach ssaków. Badania te wykonywano w szerokim zakresie stężeń (od 1 do 100 nmol/g). W ich rezultacie stwierdzono, iż po uzyskaniu wysokich stężeń (ok. 100 nmol/g) 4-HNE ulega szybkiej degradacji – w ciągu 3 minut, przy temperaturze 37°C. Przyspieszenie metabolizmu 4-HNE w opisanych warunkach ma chronić białka komórkowe przed modyfikacją przez aldehydowe produkty peroksydacji lipidów. W moich badaniach, mimo że stężenia aldehydowych produktów peroksydacji lipidów nie osiągały tak wysokich wartości, szczególną uwagę zwracałem na preparowanie tkanki w niskich temperaturach (ok. 4°C) w celu uniknięcia zaniżania wartości wyników wskutek degradacji produktów peroksydacji lipidów.

Awasthi i współpracownicy [6] zauważyli, że komórki poddane stresowi oksydacyjnemu lub termicznemu, nabierają zdolności do usuwania 4-HNE, gromadzącego się we wnętrzu komórki. Dla urzeczywistnienia tego mechanizmu niezbędna jest obecność zredukowanego glutationu (GSH). Następuje wówczas połączenie 4-HNE z GSH, a tak powstały koniugat (GSH-4HNE) jest usuwany z komórki na drodze transportu aktywnego (zależnego od ATP). Zjawisko to uzyskuje potwierdzenie w moich badaniach, w których udowodniłem, iż GSH odgrywa rolę w usuwaniu produktów peroksydacji lipidów z komórki. Działanie WRS, samodzielnie lub z czynnikami zwiększającymi liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka, prowadziło zazwyczaj do obniżenia poziomu GSH, z towarzyszącym wzrostem stężenia produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE). Silny stres oksydacyjny powodował więc wyczerpywanie puli GSH, zużywanego do eliminacji 4-HNE, redukcji utlenionych grup tiolowych enzymów komórkowych, jak również będącego substratem dla peroksydazy glutationowej, eliminującej reaktywne formy tlenu. Być może w tych warunkach upośledzona była też funkcja reduktazy glutationowej – enzymu regenerującego zasoby GSH.

Skrzydłewska i współpracownicy [236] badali nasilenie peroksydacji lipidów i status antyoksydacyjny u pacjentów z rakiem jelita grubego. W tkankach rakowych stwierdzili, iż wzrostowi produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) towarzyszył spadek

stężenia zredukowanego glutationu (GSH). Wydaje się więc, że zależność ta ma bardziej uniwersalny charakter, nieograniczający się jedynie do modeli eksperymentalnych.

Inne wytłumaczenie współzależności między generowaniem nadtlenu lipidów a wyczerpywaniem się puli GSH w błonie śluzowej żołądka szczura znaleźli Miyamoto i współpracownicy [205]. Wykazali oni sposób eliminacji nadmiaru nadtlenu lipidów poprzez fosfolipazę  $A_2$  ( $PLA_2$ ). Nadmiar nadtlenu lipidów jest hydrolizowany przez  $PLA_2$ , a następnie redukowany przez peroksydazę glutationową, do której funkcjonowania niezbędny jest GSH. Jednakże do całkowitej eliminacji nadtlenu lipidów, w ten sposób, potrzebne jest dostarczenie egzogenego GSH, gdyż jego endogenna pula jest niewystarczająca do tego procesu. Rezultaty te wskazują, iż wyczerpanie się puli GSH upośledza proces eliminacji nadtlenu lipidów. Poziom GSH decyduje więc o efektywności tego systemu i pełni tu kluczową rolę.

Awasthi i współpracownicy [6] zauważyli także, iż 4-HNE ma zdolność indukowania apoptozy w komórkach, w których powstaje. W związku z tym, że 4-HNE powstaje w błonie śluzowej żołądka poddanej stresowi (WRS), pojawia się pytanie, jaka jest rola apoptozy w tym modelu. Dotychczas przeprowadzone badania [154, 159] wykazały maksymalne nasilenie procesów apoptotycznych po 4–6 godzinach od zakończenia WRS. Bezpośrednio po zakończeniu WRS, a ten moment jest obiektem moich badań, rola apoptozy jest niewielka, porównywalna z okresem 24 godzin po zakończeniu WRS, gdy uszkodzenia stresowe ulegają prawie całkowitemu wygojeniu. Być może wytłumaczeniem tego zjawiska jest stężenie 4-HNE, które bezpośrednio po WRS osiąga wysoki poziom, a tylko niski poziom umożliwia działanie 4-HNE jako cząsteczki sygnałowej, regulującej podział i różnicowanie komórek [90]. Ponadto bezpośrednio po zakończeniu WRS przeważają procesy zapalne, z naciekiem neutrofilii i wzrostem stężenia prozapalnych cytokin, a zatem ten mechanizm wydaje się w największym stopniu zaangażowany w patogenezę uszkodzeń [49, 184, 186].

Często stosowaną, a przez niektórych badaczy preferowaną, metodą oceny generowania wolnych rodników tlenowych, jest pomiar chemiluminescencji [82, 135, 136, 227]. Podstawą tej metody jest pomiar emisji światła powstającego w czasie procesu peroksydacji lipidów. W momencie utleniania lipidów tkankowych powstaje wzbudzona postać tlenu, tzw. tlen singletowy. Tlen singletowy przy powrocie do stanu podstawowego emituje kwant energii, w procesie chemiluminescencji w postaci fotonu. Chemiluminescencja może zostać zaobserwowana dzięki jej wzmocnieniu przez luminol lub lucygeninę [9, 101, 112]. Chemiluminescencja wskazuje więc na zachodzenie procesu peroksydacji lipidów. Natomiast ja w mojej pracy stwierdzam fakt powstawania nadtlenu lipidów, oznaczając poziom ich bezpośrednich metabolitów (MDA + 4-HNE). W obecnych badaniach istnieją nawet tendencje do uznawania coraz odleglejszych metabolitów za wskaźniki stopnia peroksydacji lipidów. Alary i współpracownicy [1] stwierdzają, że 4-HNE jest dalej metabolizowany w ustroju. Te dalsze metabolity, będące głównie pochodnymi koniugatu GSH-4HNE, wydalone z żółcią i moczem, są rozważane jako biomarkery peroksydacji lipidów u ludzi. Kierunek tych badań, zgodny z wytycznymi mojej pracy, daje możliwość opracowania nieinwazyjnej metody pośredniej oceny oksydacyjnego uszkodzenia tkanek, przydatnej w warunkach klinicznych.

Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) jest kluczowym enzymem w mechanizmach ochrony błony śluzowej żołądka przed stresem oksydacyjnym [100]. Spadek aktywności



tego enzymu jest wyrazem wyczerpania zdolności adaptacyjnych do stresu oksydacyjnego, czego konsekwencją może być powstawanie uszkodzeń błony śluzowej żołądka. Natomiast działanie substancji ochronnych, których właściwości gastroprotektcyjne związane są z metabolizmem tlenowym, powinno prowadzić do powrotu aktywności tego enzymu do wartości obserwowanych w zdrowych tkankach (restytucja aktywności), w których mechanizmy zmiatania reaktywnych form tlenu są w pełni sprawne [29, 182, 184–186, 191, 262].

Podsumowując powyższe rozważania, należy stwierdzić, iż działanie WRS powoduje wzrost stężenia MDA + 4-HNE, z towarzyszącym spadkiem aktywności SOD i poziomu GSH. Działanie substancji pogłębiających oksydacyjne, uszkadzające mechanizmy stresowe, powinno prowadzić do dalszego wzrostu stężenia MDA + 4-HNE, z równoczesną coraz większą redukcją aktywności SOD i większym spadkiem poziomu GSH. Natomiast działanie substancji gastroprotektcyjnych, zmniejszających szkodliwe działanie reaktywnych form tlenu w stresie (WRS), powinno prowadzić do powrotu wymienionych wyżej wielkości do wartości obserwowanych w tkankach zdrowych, niepoddanych WRS (spadek MDA + 4-HNE, wzrost SOD i GSH).

W mojej pracy obiektem badań były różne czynniki regulujące i modyfikujące funkcjonowanie bariery śluzówkowej, w aspekcie wyżej wymienionych wykładników stresu oksydacyjnego błony śluzowej żołądka poddanej WRS. Istotnym aspektem było ustalenie roli NO przez podanie jego donorów. Zaaplikowane donory NO miały charakter substancji stosowanych w badaniach eksperymentalnych: SIN-1 (metabolit molsydminy, znanej też pod nazwą SIN-10), SNAP [65, 178, 191, 259]. Zastosowane zostały również substancje używane jako leki: nitrogliceryna (lek klasyczny) i NO-aspiryna (lek innowacyjny w fazie badań przedklinicznych) [20, 34, 143, 182, 253].

Skutki działania donorów NO uzależnione są od dawki. Małe dawki donorów uwalniają NO na poziomie niskim, fizjologicznym, którego rezultatem jest działanie ochronne. Natomiast duże dawki donorów uwalniają NO na poziomie wysokim, co może nasilać uszkodzenia tkanek, gdyż wówczas NO ujawnia swoje właściwości wolnorodnikowe [78, 115, 132, 133, 182, 191, 254].

W dotychczasowych badaniach stwierdzono, iż SIN-1 wykazuje przeciwmiażdżycowe właściwości w mikrokrążeniu jelitowym poprzez hamowanie rodnikogennej funkcji makrofagów [259]. W przypadku SNAP, donora NO, którego silne działanie udowodniono w regulacji nadciśnienia na poziomie sercowo-naczyniowym w modelu zwierzęcym [242], mocno zarysowuje się dawkozależność działania. Dotychczas wykazano, że SNAP w niskich dawkach wykazuje działanie gastroprotektyjne w modelu etanolowym [162] i antysekrecyjne w badaniach na izolowanych komórkach okładzinowych w modelu *in vitro* [24]. Natomiast SNAP zastosowany w wysokich dawkach opóźnia gojenie się wrzodów indukowanych etanolem [162]; nitrogliceryna zaś w tym modelu zmniejsza uszkodzenia etanolowe dzięki przeciwdziałaniu zmianom potencjałów transmembranych, wywoływanych przez alkohol etylowy [245].

W mojej pracy pierwszym krokiem w badaniu donorów NO było określenie dawki fizjologicznej, uwalniającej NO na poziomie umożliwiającym jego działanie ochronne, gastroprotektyjne. W tym celu został zbadany wpływ wzrastających dawek SIN-1, SNAP i nitrogliceryny w modelu WRS na liczbę uszkodzeń i przepływ krwi w błonie śluzowej żołądka (tab. I–III), w celu poszukiwania dawki, przy której następuje redukcja

liczby uszkodzeń i wzrost żołądkowego przepływu krwi. Dawki te uznano za gastroprotektoryjne. Warto zauważyć, iż dawka 2-krotnie wyższa od uznanej za gastroprotektoryjną nie prowadziła do dalszej redukcji liczby uszkodzeń. Można się spodziewać, że badanie coraz wyższych dawek donorów NO doprowadziłoby w końcu do określenia poziomu gastrotoksycznego (wzrost liczby uszkodzeń), wynikającego z uwalniania takich ilości NO, które potęgują stres oksydacyjny, a tym samym uszkodzenie tkanek, jak wykazano dla SNAP w modelu etanolowym [162]. Zostało także stwierdzone, iż dawki gastroprotektoryjne badanych donorów NO powodowały zmniejszenie nasilenia procesu peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) i wzrost aktywności SOD, jak również poziomu GSH (tab. X–XII), wypełniając tym samym przyjęte kryteria osłabienia stresu oksydacyjnego, z równoczesnym wzmocnieniem antyoksydacyjnych mechanizmów obronnych.

Kolejny etap eksperymentalny miał wykazać, jak gastroprotektoryjne dawki donorów NO działają na zdrową błonę śluzową żołądka (niepoddaną WRS). Nie stwierdzono różnic w liczbie uszkodzeń, żołądkowym przepływie krwi (ryc. 3) ani w parametrach stresu oksydacyjnego, tj. MDA + 4-HNE, SOD, GSH (ryc. 10–12) w porównaniu ze zdrową błoną śluzową. Wyniki te dowodzą, iż wyselekcjonowane dawki SIN-1, SNAP i nitrogliceryny nie wykazują samoistnej aktywności wobec błony śluzowej żołądka, wynikającej np. tylko z ich właściwości naczyniorozszerzających, ale uwalniają w przypadku stresu (WRS) dawki NO, przeciwdziałające negatywnym skutkom działania reaktywnych form tlenu i przywracające równowagę procesów zmiatania wolnych rodników.

Za podstawę do wyjaśnienia tych zjawisk mogą służyć badania Chenga i współpracowników [75]. Wykazali oni, iż równowaga pomiędzy NO a anionorodnikiem ponadtlenkowym ( $O_2^{\bullet -}$ ) może być nawet ważniejsza niż bezwzględne wartości ich poziomów. Wniosek ten został wysunięty dzięki obserwacji dysfunkcji śródbłonka w nadciśnieniu, spowodowanej przez upośledzenie syntezy NO lub przez inaktywację NO, pochodzącego ze śródbłonka, wskutek działania wolnych rodników tlenowych. Rezultaty tych eksperymentów zostały potwierdzone przez Guzika i współpracowników [117], którzy stwierdzili, że  $O_2^{\bullet -}$  jest neutralizowany przez NO produkowany w śródbłonku i ta droga eliminacji wolnych rodników jest 3-krotnie szybsza niż ich unieszkodliwianie na zasadzie dysmutacji przez SOD. Mimo to aktywność SOD jest niezbędna do procesów antyoksydacyjnych w śródbłonku, gdyż zablokowanie tego enzymu przez dietylotio-karbamat (DETC) osłabia wazorelaksację mediowaną przez NO. Inne badania [70, 115] potwierdziły zależność efektu tkankowego NO od jego stężenia. Niskie stężenia NO, produkowanego przez konstytutywną postać syntazy (cNOS), oprócz bezpośredniej neutralizacji  $O_2^{\bullet -}$ , hamują ekspresję śródbłonkowych molekuł adhezyjnych, powodując zmniejszenie adhezji neutrofilii i redukcję ich migracji do tkanek. W ten sposób zmniejsza się tkankowa produkcja  $O_2^{\bullet -}$ , na drodze zewnątrzpochodnej, przez oksydazę NADPH zlokalizowaną w neutrofilach (wstęp – podrozdział 1.2), a tym samym osłabieniu ulega proces peroksydacji lipidów, czego wyrazem jest spadek poziomu MDA i 4-HNE. Natomiast wysokie stężenia NO, produkowane przez indukowalną postać syntazy (iNOS), mogą mieć działanie toksyczne i prozapalne. Jednakże ostateczny rezultat działania NO może nie zależeć od tego, przez który enzym jest produkowany (iNOS czy cNOS), ale od jego stężenia w tkankach, zależnego od odległości od źródła NO.

W modelu WRS powstaje  $O_2^{\bullet -}$  utleniający lipidy komórkowe. Dostarczenie przez SIN-1, SNAP lub nitroglicerynę NO w niskich stężeniach powoduje neutralizację części

puli  $O_2^{\bullet-}$ , jak również prowadzi do zmniejszenia infiltracji tkanek przez neutrofile będące źródłem tego rodnika. Opisana sekwencja zjawisk zmniejsza intensywność powstawania nadtlenków lipidów, co wyraża się w spadku tkankowych stężeń ich metabolitów (MDA i 4-HNE). Spadek poziomu metabolitów nadtlenków lipidów prowadzi do wzrostu puli GSH wskutek zmniejszenia ilości koniugatów GSH-4HNE, jak również z powodu zmniejszenia zapotrzebowania na GSH przez peroksydazę glutationową. W rezultacie wzrasta aktywność SOD, częściowemu wygaszeniu ulega kaskada rodnikogenezy i wskutek tych zjawisk zmniejsza się ilość uszkodzeń błony śluzowej żołądka.

Interesujący pod względem swego działania jest lek innowacyjny: NO-aspiryna (NO-ASA). NO-ASA zawiera w swojej cząsteczce grupę nitrową, której celem ma być niwelowanie ubocznych skutków działania aspirynowego komponentu tego leku, wynikającego z blokowania cyklooksygenazy (COX). NO, uwalniany z cząsteczki NO-ASA, kompensuje niekorzystne konsekwencje blokowania COX [26, 34, 37, 43, 182].

Fiorucci i współpracownicy [103] wykazali, że korzystny efekt działania NO-ASA na żołądek wynika także z hamowania uwalniania prozapalnych cytokin, takich jak interleukina-1 beta i czynnik martwicy guzów alfa (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ). Wykazano również antyoksydacyjne działanie NO-ASA, przyspieszające gojenie się ran w modelu obrzękowego uszkodzenia kończyny dolnej u szczurów [143]. NO-ASA wykazuje antyagregacyjne działanie na płytki krwi za pośrednictwem wzrostu poziomu GSH w ich wnętrzu. Mechanizm ten został uznany za korzystny w kontekście zapobiegania żołądkowym skutkom ubocznym komponentu aspirynowego tego leku [253]. Korzystny wpływ zaobserwowano również w przypadku działania NO-ASA na komórki nowotworowe raka jelita grubego u ludzi [107]. W komórkach nowotworowych proponowany mechanizm działania NO-ASA, za pośrednictwem GSH, jest jednak odmienny w porównaniu z komórkami, które nie uległy transformacji nowotworowej. NO-ASA łączy się w komórkach nowotworowych z GSH, tworząc koniugat zubażający pulę GSH i jej potencjał redukcyjny. Powoduje to wzrost wewnątrzkomórkowego poziomu  $O_2^{\bullet-}$  indukującego apoptozę komórek rakowych.

W mojej pracy wykazałem, iż stosowanie NO-ASA, w modelu WRS, wykazuje analogiczne rezultaty do obserwowanych po zastosowaniu badanych donorów NO (SIN-1, SNAP, nitrogliceryna). Użycie wzrastających ilości NO-ASA umożliwia ustalenie dawki o działaniu gastroprotektynnym, powodującym zmniejszenie liczby uszkodzeń (tab. IV). Gastroprotektynna dawka NO-ASA wywoływała spadek natężenia procesu powstawania nadtlenków lipidów (obniżenie MDA + 4-HNE), a także wzrost aktywności SOD i poziomu GSH (tab. XIII). Zastosowanie tej dawki na zdrową błonę śluzową żołądka nie prowadziło do żadnych zmian (ryc. 4, 13, 15). Wykazana została jedynie zdolność do niewielkiej, choć znamiennej statystycznie, indukcji aktywności SOD przez NO-ASA w zdrowej błonie śluzowej żołądka (ryc. 14). NO-ASA, podobnie jak inne badane donory NO, wykazywała korzystne działanie w modelu WRS, przejawiające się zmniejszeniem liczby uszkodzeń, redukcją stężeń produktów peroksydacji lipidów (spadek MDA + 4-HNE) i powrotem parametrów przeciwutleniaczy (wzrost SOD i GSH) do poziomu obserwowanego w zdrowych tkankach (ryc. 13–15).

Stwierdzone zostało także, iż zastosowanie kombinacji nitrogliceryny z aspiryną, w modelu WRS, prowadzi do prawie takich samych rezultatów, jak aplikacja NO-ASA (ryc. 4, 13–15). Obserwacja ta potwierdza zależność gastroprotektynnego działania

NO-ASA, w modelu WRS, od uwalniania NO. Uwalnianie NO z cząsteczki NO-ASA jest prawdopodobnie bardziej efektywne niż stosowanie suplementacji NO przez nitroglicerynę przy podawaniu aspiryny, na co wskazują nieco korzystniejsze wyniki stosowania NO-ASA w porównaniu z terapią dwulekową, nitrogliceryną i aspiryną (ryc. 4, 13–15).

Badania nad klasyczną aspiryną, najpopularniejszym przedstawicielem niesteroidowych leków przeciwzapalnych, koncentrują się na jej uszkodzającym działaniu na błonę śluzową żołądka. Stosowanie wysokich dawek aspiryny, rzędu 150–300 mg/kg, powodowało powstawanie licznych uszkodzeń błony śluzowej żołądka, w których patogenezie wykazano istotną rolę reaktywnych form tlenu [18, 102, 181, 187, 208, 225]. Isozaki i współpracownicy [134] wykazali, że aspiryna indukuje chemotaksję neutrofilii do żołądka. Neutrofile uszkodzają błonę śluzową żołądka na drodze wolnorodnikowej, czego wyrazem jest intensyfikacja procesu peroksydacji lipidów.

W badaniach eksperymentalnych została wykazana również odmienna, gastroprotekcynna aktywność aspiryny. Wielokrotne podawanie aspiryny (model chroniczny) powoduje adaptację błony śluzowej żołądka, przejawiającą się zmniejszeniem liczby uszkodzeń. Zjawisko to tłumaczy się acetylacją indukowalnej cyklooksygenazy (COX-2). Tak zmodyfikowany enzym otwiera kaskadę produkcji lipoksyn [218]. Lipoksyny zaś hamują naciek tkanek przez neutrofile, zmniejszając tym samym oksydacyjne uszkodzenie tkanek.

W mojej pracy został zbadany wpływ wzrastających dawek aspiryny na liczbę uszkodzeń i żołądkowy przepływ krwi, w modelu WRS. Stwierdzono, że przy dawce 40 mg/kg nastąpił wzrost liczby uszkodzeń, z towarzyszącą redukcją przepływu krwi (tab. V). Dawkę tę można uznać za niską (w porównaniu ze 150 mg/kg), jednakże w modelu WRS wykazała działanie pogłębiające stopień uszkodzenia błony śluzowej żołądka. Zostało także stwierdzone, iż dawka 40 mg/kg prowadzi do spadku poziomu MDA i 4-HNE oraz niewielkiego, choć statystycznie znamiennego, zwiększenia aktywności SOD, pozostając bez wpływu na poziom GSH (tab. XIV). Przyczyną tego stanu rzeczy mogą być antyoksydacyjne właściwości metabolitów aspiryny [95]. Aspiryna jest bowiem metabolizowana w organizmie do kwasu salicylowego, który ma zdolność inaktywowania wolnych rodników tlenowych, czego konsekwencją jest osłabienie intensywności powstawania nadtlenków lipidów [94, 146, 187]. Drew i współpracownicy [93] wykazali, że kwas salicylowy oprócz osłabienia procesu peroksydacji lipidów, co jest zgodne z moimi obserwacjami, aktywuje peroksydazę glutationową. Substratem dla peroksydazy glutationowej jest GSH i prawdopodobnie jego zwiększone zużycie przez ten enzym sprawia, że nie nastąpił wzrost poziomu GSH, który zazwyczaj towarzyszył – w moich badaniach – wzrostowi aktywności SOD i spadkowi MDA + 4-HNE. Prawdopodobnie także w przypadku użycia niskiej dawki aspiryny (40 mg/kg), w modelu WRS, ujawnia się jej efekt przeciwzapalny. Prowadzi on do zahamowania migracji neutrofilii, a tym samym do obniżenia oksydacyjnego uszkodzenia tkanek [185, 187].

Opisane powyżej mechanizmy wyjaśniają, dlaczego aspiryna w niskiej dawce, mimo że stanowi czynnik potęgujący uszkodzenia stresowe, nie prowadzi do wzrostu metabolizmu tlenowego w błonie śluzowej żołądka. Wynika stąd, iż niekorzystne działanie aspiryny, w modelu WRS, jest konsekwencją innych mechanizmów, jak hamowanie aktywności COX i w konsekwencji spadek poziomu gastroprotekcynnych prostaglandyn [34].

Zastosowanie aspiryny, w badanej dawce, na błonę śluzową niepoddaną WRS (zdrowa śluzówka) prowadzi do powstania niewielkiej liczby uszkodzeń (ryc. 4), którym towarzyszy wzrost metabolitów nadtlenków lipidów ze spadkiem aktywności SOD i poziomu GSH (ryc. 13–15). Wyniki te świadczą o tym, że aspiryna zastosowana w niskiej dawce wykazuje samoistnie nieznaczne działanie uszkadzające na błonę śluzową żołądka, a w proces ten zaangażowane są przemiany reaktywnych form tlenu [56], natomiast zastosowana w kontekście stresu (WRS) przejawia własności antyoksydacyjne, które jednakże nie przeważają nad jej uszkadzającym, gastrotoksycznym działaniem w tym modelu.

Celem dalszego etapu moich badań było określenie roli endogennego NO, jako czynnika pośredniczącego w działaniu pentoksyfiliny (PTX), na błonę śluzową żołądka w modelu WRS. Do realizacji tego celu został użyty bloker syntazy NO (L-NNA) i substrat dla tego enzymu: L-arginina [84, 110, 127]. Dotychczas stwierdzono wpływ PTX na mikrokrążenie, prowadzący do wzrostu przepływu krwi, dzięki obniżeniu jej lepkości i zmniejszeniu zdolności do formowania zakrzepów. W swoim działaniu na erythrocyty PTX prowadzi do wzrostu ATP. Ten zaś przyczynia się do stabilizacji błony komórkowej erythrocyta, dzięki czemu zwiększa się jego zdolność do odkształcania i przeciskania się przez kapilary. PTX działa także na trombocyty wskutek blokowania fosfodiesterazy, a w konsekwencji poprzez wzrost cAMP zmniejsza agregację płytek krwi i uwalnianie przez nie tromboksanu  $A_2$  ( $TXA_2$ ). Ponadto PTX hamuje fosfolipazę  $A_2$  ( $PLA_2$ ), hamując powstawanie kwasu arachidonowego, obniża adhezję leukocytów do śródbłonka. Ważną właściwością PTX jest jej antagonizm wobec czynnika martwicy guzów alfa ( $TNF\alpha$ ) [238]. PTX działa też naczyniorozszerzająco za pośrednictwem wzrostu cAMP w komórkach mięśni gładkich [184, 187].

W mojej pracy udowadniam, że PTX wywiera ochronne działanie na błonę śluzową żołądka i wpływ ten, w dużej mierze, zależy od pośrednictwa endogennego NO. Analiza wrastających dawek PTX, w modelu WRS, pozwoliła na wyodrębnienie dawki gastroprotektynnej, według poprzednio opisanych kryteriów (tab. VI). Dawka ta (tab. XV) obniżała peroksydację lipidów (spadek MDA + 4-HNE) i wzmacniała zmiataczowe mechanizmy obronne (wzrost SOD i GSH). Zaaplikowana na błonę śluzową żołądka, niepoddaną WRS, nie wykazywała samoistnego działania (ryc. 5, 16, 18), z wyjątkiem SOD. W przypadku tego enzymu PTX powodowała wzrost jego aktywności (ryc. 17). Ochronne właściwości PTX, w modelu WRS, były redukowane po wcześniejszym zastosowaniu L-NNA (bloker syntazy NO), a ulegały restytuowaniu po dodatkowym użyciu L-argininy, będącej substratem dla syntazy NO (ryc. 5, 16–18). Zastosowana dawka L-argininy (50 mg/kg) nie działała gastroprotektynnie w modelu WRS (ryc. 6, 19–21), w przeciwieństwie do dawki 200 mg/kg, która samoistnie wykazuje działanie ochronne, powodując duży wzrost żołądkowego przepływu krwi [14]. L-arginina, w zastosowanej przez mnie dawce, umożliwiła przełamanie hamującego działania L-NNA na indukowaną przez PTX gastroprotekcję, mediowaną przez endogenny NO, z zaangażowaniem w ten proces wewnątrzkomórkowych procesów zmiatania wolnych rodników tlenowych.

Jak wspomniano we wstępie (podrozdział 1.1), kolejnym czynnikiem, istotnym w fizjologicznej regulacji mechanizmów ochronnych bariery śluzówkowej, jest enzym cyklooksygenaza, który występuje w 2 postaciach: konstytutywnej (COX-1) oraz indu-

kowalnej (COX-2). Aby dokładniej określić rolę wymienionych postaci COX, oprócz aspiryny będącej nieselektywnym blokerem COX, zostały użyte w mojej pracy selektywne inhibitory: SC-560 dla COX-1 [39, 224], rofekoksyb dla COX-2 [2, 13, 77, 156], a także resveratrol. Resveratrol jest polifenolem występującym przede wszystkim w winogronach. Łączy on w sobie właściwości przeciwutleniacza z blokowaniem COX-1 [213, 265]. Interesujące wydaje się sprawdzenie, która jego właściwość przeważa w modelu WRS: uszkadzająca – w związku z blokowaniem COX-1, czy ochronna – związana ze zmiataniem wolnych rodników.

W ostatnich latach obiektem zainteresowania różnych zespołów badawczych był rofekoksyb, selektywny inhibitor COX-2 [13, 39, 76, 106, 156, 176, 226], znany jako lek innowacyjny pod nazwą Vioxx. Stosowany był w ostrych bólach reumatycznych i zapaleniach stawów, do czasu stwierdzenia poważnych skutków ubocznych w postaci zaburzeń sercowo-naczyniowych, które były przyczyną zaniechania jego stosowania w warunkach klinicznych [195]. Pozostaje on jednak nadal cenną substancją w badaniach eksperymentalnych, ze względu na swoją selektywność w blokowaniu COX-2.

W mojej pracy została dokonana analiza wzrastających dawek SC-560 i rofekoksybu, w modelu WRS, która pozwoliła na wyodrębnienie dawek uszkadzających w tym modelu, według poprzednio opisanych kryteriów (tab. VII i VIII). Dawki te powodowały upośledzenie komórkowego potencjału antyoksydacyjnego poprzez redukcję puli GSH (tab. XVI i XVII). Ten kierunek zmian mechanizmów antyoksydacyjnych pozostaje w zgodności z wynikami badań Altinkaynaka i współpracowników [2], którzy stwierdzili, że rofekoksyb w modelu indometacynowych uszkodzeń żołądka działa raczej ku uszczupleniu zasobów GSH. Wyselekcjonowane w moich badaniach dawki zwiększające liczbę uszkodzeń w modelu WRS, w przypadku zastosowania ich na zdrową błonę śluzową żołądka, nie powodowały powstawania żadnych zmian (ryc. 7), nie wpływały też na parametry stresu oksydacyjnego (ryc. 22–24). Do podobnych stwierdzeń doszła Peskar [224], twierdząc, iż w żołądku szczura hamowanie COX-1 przez SC-560 lub COX-2 przez rofekoksyb w zdrowej błonie śluzowej żołądka, pod nieobecność potencjalnie szkodliwych, wrzodotwórczych czynników, nie powoduje powstawania uszkodzeń śluzówki. W przypadku rofekoksybu nie bez znaczenia pozostaje fakt, iż w zdrowej tkance nie jest indukowane powstawanie COX-2, COX-2 zaś jest docelowym enzymem dla tego blokera.

Wyniki badań dawkozależności dla resveratrolu wykazały gastroprotekcyjny charakter tej substancji (tab. IX). Resveratrol ujawnił, w modelu WRS, właściwości zmiatacza wolnych rodników (spadek MDA + 4-HNE), zwiększającego potencjał antyoksydacyjny poprzez zwiększenie puli GSH (tab. XVIII). W zetknięciu ze zdrową tkanką (ryc. 22–24) nie wykazywał samoistnego działania. Uzyskane w mojej pracy wyniki wskazują, że w modelu stresowym (WRS) własności resveratrolu jako przeciwutleniacza przeważają nad konsekwencjami wynikającymi z blokowania COX-1.

Dotychczasowe badania związane z rolą czuciowych włókien aferentnych (włókien C) koncentrowały się głównie na ich roli w krążeniu trzewnym. Zostało wykazane, że czuciowe włókna aferentne, wrażliwe na działanie kapsaicyny, odgrywają istotną rolę w fizjologii jelit za pośrednictwem regulacji zmian przepływu krwi i metabolizmu [15, 125, 221–223]. Integralność włókien C odgrywa rolę w prawidłowym funkcjonowaniu wielu narządów [175]. Wang i współpracownicy [256] wykazali, że czuciowe włókna

aferentne pełnią rolę kompensacyjną w procesie oksydacyjnego uszkodzenia nerek, w przebiegu nadciśnienia generowanego wysoką podażą sodu. W dotychczasowych badaniach, dotyczących roli włókien kapsaicynowych (włókien C) w szybkości gojenia uszkodzeń błony śluzowej żołądka, wykazano rolę prostaglandyn i NO w różnych modelach doświadczalnych [25, 28, 52, 53, 62].

Analiza udziału metabolizmu tlenowego w działaniu kapsaicyny na błonę śluzową żołądka wykazała rozbieżność w skutkach podawania małych i dużych dawek kapsaicyny. Badania ujawniły antyoksydacyjne działanie niskich dawek kapsaicyny. Kogure i współpracownicy [150] dowiedli silnych antyoksydacyjnych właściwości kapsaicyny w mitochondriach wątroby, w modelu *in vitro*. Kapsaicyna wykazała wpływy zmiataczowe w okolicy błon mitochondrialnych, szczególnie narażonej na niecałkowitą redukcję tlenu, wskutek wycieku elektronów z łańcucha oddechowego, prowadzącego do powstawania wolnych rodników tlenowych.

Inne badania wykazały podobne zmiataczowe właściwości kapsaicyny w erytrocytach (przejawiające się spadkiem stężenia MDA), a także w nerkach poddanych działaniu czynników toksycznych [199, 232].

W mojej pracy zostały użyte wysokie dawki kapsaicyny, prowadzące do zniszczenia czuciowych włókien aferentnych. Zniszczenie tych włókien, w modelu stresowym (WRS), powodowało zwiększenie liczby uszkodzeń w porównaniu ze zwierzętami poddanymi WRS, z zachowanymi włóknami czuciowymi (ryc. 8). Zgodnie z oczekiwaniami zmianom tym towarzyszyło wzmożone generowanie nadtlenków lipidów, czego wyrazem był wzrost stężeń MDA i 4-HNE, przy osłabieniu tkankowych mechanizmów obronnych, które przejawiało się redukcją aktywności SOD i puli GSH (ryc. 25–27).

Jak stwierdzono we wstępie (podrozdział 1.1), głównym mediatorem włókien kapsaicynowych w żołądku jest CGRP. Podanie CGRP zwierzętom odnerwionym i poddanym stresowi (WRS), będące rodzajem terapii substytucyjnej, redukowało liczbę uszkodzeń oraz powodowało powrót parametrów stresu oksydacyjnego do wartości obserwowanych u zwierząt nieodnerwionych (z zachowanymi włóknami C) i poddanych WRS.

Erin i współpracownicy [96] próbowali zbadać mechanizm generowania wolnych rodników tlenowych w błonie śluzowej żołądka szczura, poddanego stresowi termicznemu, ze szczególnym uwzględnieniem roli włókien C. Zwierzęta w tych eksperymentach zostały poddane stresowi termicznemu w temperaturze 6°C, w czasie 4 godzin. Erin i współpracownicy [96] nie wykazali istotnych zmian poziomu MDA. Rozbieżność wyników ma tu kilka źródeł. W moich badaniach inne były warunki stresu termicznego, ponadto był to stres wodny, a woda charakteryzuje się dużą pojemnością cieplną, w związku z czym silniej wpływa na fizjologię zwierzęcia. Ponadto Erin [96] dokonał lokalnej aplikacji kapsaicyny do splotu trzewnego. W mojej pracy natomiast dokonano systemowego odnerwienia kapsaicynowego, mającego na celu funkcjonalną ablację włókien C (metodyka, podrozdział 3.3).

W celu głębszej analizy funkcjonowania bariery śluzówkowej w modelu stresowym (WRS) został zbadany, w mojej pracy, wpływ selektywnych inhibitorów COX-1 i COX-2 na powstawanie wrzodów i metabolizm tlenowy u zwierząt odnerwionych kapsaicynowo. Dodatkowe użycie selektywnych inhibitorów COX-1 (SC-560) i COX-2 (rofekoksyb), u zwierząt odnerwionych i poddanych WRS, powodowało dalsze zwiększenie liczby uszkodzeń, wynikające z pogorszenia wskaźników oksydacyjnego uszko-

dzenia tkanek (ryc. 8, 25–27). Substytucyjne zastosowanie CGRP polepszało wymienione parametry do poziomów obserwowanych u zwierząt z zachowanymi włóknami C, które miały zaaplikowane SC-560 i rofekoksyb w modelu WRS. Wyniki te wskazują, że ablacja czuciowych włókien aferentnych wzmacnia gastrotoksyczne działanie wymienionych inhibitorów COX. Zostało także stwierdzone, iż samo odnerwienie kapsaicynowe nie powoduje powstania zmian w błonie śluzowej żołądka, w przypadku gdy nie zastosowano procedury WRS.

Odmienne wyniki uzyskano przy zastosowaniu resveratrolu. W modelu odnerwienia kapsaicynowego i WRS, w działaniu resveratrolu przeważał efekt zmiatania wolnych rodników tlenowych, czego konsekwencją było wzmocnienie potencjału antyoksydacyjnego tkanek, prowadzące do zmniejszenia ich oksydacyjnego uszkodzenia (ryc. 8, 25–27).

Gdy został użyty nieselektywny inhibitor COX – aspiryna – u zwierząt odnerwionych, poddanych WRS, obserwuje się nasilenie uszkodzeń błony śluzowej żołądka, podobnie jak miało to miejsce w przypadku SC-560 i rofekoksybu (ryc. 9). Działanie aspiryny w tym układzie w niewielkim stopniu redukowało nasilenie procesu peroksydacji lipidów (w porównaniu z grupą zwierząt odnerwionych, poddanych WRS), który jednakże wciąż utrzymywał się na wysokim poziomie (ryc. 28), powodowało wzmożenie aktywności SOD (ryc. 29) i redukcję puli GSH (ryc. 30). Opisane rezultaty potwierdzają wcześniej zaobserwowane zjawisko koegzystencji 2 właściwości aspiryny (w dawce 40 mg/kg w modelu WRS): uszkadzającej błonę śluzową żołądka i częściowego zmiatacza wolnych rodników tlenowych. Jednakże właściwości antyoksydacyjne były słabiej zaznaczone, w warunkach deficytu CGRP, u zwierząt pozbawionych włókien C.

Zastosowanie pentoksyfiliny u zwierząt ze zniszczonymi włóknami C, w modelu WRS, wywiera korzystny, gastroprotekcynny wpływ w porównaniu z grupą odnerwionych zwierząt poddanych stresowi (ryc. 9), osłabia proces powstawania nadtlenników lipidów (ryc. 28), wzmacnia aktywność SOD (ryc. 29) i zwiększa pulę GSH (ryc. 30). W odniesieniu do pentoksyfiliny, wpływ ochronny na błonę śluzową żołądka w modelu WRS u zwierząt odnerwionych, współgra z poprawą parametrów stresu oksydacyjnego. Można więc przyjąć, iż pentoksyfilina wywiera działanie ochronne na błonę śluzową żołądka w modelu WRS, wskutek osłabienia oksydacyjnego uszkodzenia tkanek, zarówno u zwierząt z zachowanymi, jak i zniszczonymi włóknami C. Zniszczenie włókien C osłabia gastroprotekcynne właściwości pentoksyfiliny, których pełnię można przywrócić, uzupełniając brakujący mediator, poprzez podanie egzogennej CGRP. Wspólne podanie pentoksyfiliny z aspiryną daje skutek pośredni (ryc. 9, 28–30), co sugeruje, że aspiryna w obecności pentoksyfiliny częściowo blokuje jej dobroczynne działanie w modelu WRS ze zniszczonymi czuciowymi włóknami aferentnymi. Daje to podstawę do twierdzenia, iż działanie aspiryny jest mocno uzależnione od innych czynników, w których obecności ona działa. W zależności od układu tych czynników aspiryna może przejawiać różne właściwości: ochronne bądź uszkadzające, prooksydacyjne bądź antyoksydacyjne.

Podsumowując, należy stwierdzić, że wyniki badań przedstawione w tej rozprawie, w doświadczalnym stresowym modelu uszkodzeń błony śluzowej żołądka, dowiodły roli produktów peroksydacji lipidów, aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i poziomu zredukowanego glutationu jako wskaźników uszkodzenia tkanek przez reaktywne for-



my tlenu i kluczowych punktów decydujących o obronie tkanek przed destrukcyjnym oddziaływaniem metabolizmu tlenowego. Zbadany został wpływ najważniejszych substancji, używanych w badaniach eksperymentalnych, wpływających na funkcjonowanie bariery śluzówkowej, z których część ma zastosowanie kliniczne. Wykazane zostało, iż amplifikacji powstawania uszkodzeń błony śluzowej żołądka, w modelu stresowym, z reguły towarzyszy wzrost tkankowego stężenia MDA i 4-HNE, spadek aktywności SOD i uszczuplenie puli GSH. Natomiast substancje o działaniu ochronnym, zmniejszające stresową destrukcję błony śluzowej, najczęściej powodują odwrotne zmiany głównych parametrów biologicznych skutków działania wolnych rodników tlenowych (spadek MDA + 4-HNE, wzrost SOD i GSH).

## 6. WNIOSKI

1. Obserwacje, poczynione w niniejszych badaniach, potwierdziły wcześniejsze spostrzeżenia, iż w mechanizmie stresowego eksperymentalnego uszkodzenia błony śluzowej żołądka istotną rolę odgrywa upośledzenie dynamicznej równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej tej niezwykle metabolicznie aktywnej tkanki.
2. Rozważając potencjalne mechanizmy występujących w błonie śluzowej żołądka molekularnych zaburzeń homeostazy oksydacyjnej, dowiedziono, iż tlenek azotu (endo- i egzogeny) istotnie osłabia wielkość i dynamikę rozwoju stresowych uszkodzeń błony śluzowej. Obserwowany protekcyjny skutek działania tej molekuly jest rezultatem zmniejszania generacji reaktywnych połączeń tlenu i tym samym zwiększenia antyoksydacyjnego potencjału błony śluzowej żołądka.
3. Niekorzystne zmiany procesów oksydacji w błonie śluzowej żołądka, w mechanizmie rozwoju stresowych uszkodzeń, są również modulowane przez aktywność neuronów sensorycznych typu C. Dokonana analiza farmakologiczna dowiodła, że zniszczenie tych neuronów potęguje uszkodzenia błony śluzowej, prowadząc do wzrostu generacji rodników nadtlenkowych. Natomiast CGRP, główny neurotransmitter tych neuronów, przywraca równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną. Uzyskane dowody wskazują, że neurony sensoryczne, aktywowane w stresie, osłabiają jego metaboliczne wpływy w błonie śluzowej poprzez utrzymanie mikrokrążenia i tym samym oksygenacji tkanek, mimo działania czynników stresowych indukujących lokalne niedokrwienie i hipoksję.
4. Eliminacja generacji prostaglandyn w uszkodzeniach stresowych błony śluzowej żołądka indukuje – wcześniej już poznane – nasilenie stopnia tego uszkodzenia. Niniejsze badania dowiodły, że w mechanizmie tego efektu zaburzenie potencjału oksydacyjnego błony śluzowej żołądka odgrywa również istotną rolę. Spostrzeżenie to dowodzi istnienia jednego z ważnych mechanizmów gastroprotekcyjnego działania prostaglandyn, które polega na działaniu antyoksydacyjnym.
5. Dowiedziono również, że stopień stresowego uszkodzenia błony śluzowej żołądka, w następstwie osłabienia generacji prostaglandyn przez aspirynę, jest znamienne zahamowany, jeśli zastosuje się kompleks NO-ASA. Obserwowany fenomen jest skutkiem mikrokrążeniowego działania NO i wspomnianego wcześniej hamowania generacji reaktywnych połączeń tlenu. Powyższe spostrzeżenie ma istotne aplikacyjne znaczenie z uwagi na możliwość stosowania połączenia NO-ASA w leczeniu człowieka.

6. Reasumując, przeprowadzone badania wykazały, że dynamiczna równowaga potencjału oksydacyjno-antyoksydacyjnego jest niezbędnym warunkiem homeostazy błony śluzowej żołądka. Złożone mechanizmy patofizjologiczne, ogólne i lokalne, aktywowane w czasie stresu, prowadzą do zaburzenia tej równowagi, co przejawia się nadmierną generacją reaktywnych połączeń tlenu o złożonym i częściowo już poznanym uszkodzającym działaniu. W mechanizmie powyższych niekorzystnych lokalnych działań w błonie śluzowej żołądka tlenek azotu, prostaglandyny i neurony sensoryczne oraz wzajemna interakcja tych czynników odgrywają istotną rolę.

## 7. STRESZCZENIE

Jednym z czynników uszkodzających błonę śluzową żołądka są reaktywne formy tlenu. Utleniają one lipidy błon komórkowych (peroksydacja lipidów), prowadząc do powstania nadtlenków lipidów. Nadtlenki lipidów są metabolizowane do malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE). Wzrost poziomu produktów peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE) jest miarą oksydacyjnego uszkodzenia tkanek, pośrednio zaś świadczy o zwiększonym generowaniu wolnych rodników tlenowych. Komórki wyposażone są w mechanizmy obronne, eliminujące nadmiar reaktywnych form tlenu. Pierwszym enzymem otwierającym kaskadę zmiatania wolnych rodników tlenowych jest dysmutaza ponadtlenkowa (SOD). Aktywność SOD świadczy więc o sprawności tkankowych mechanizmów antyoksydacyjnych. Kolejnym istotnym składnikiem kaskady zmiatania reaktywnych form tlenu jest zredukowana postać glutationu (GSH). GSH pełni w komórce rolę buforu antyoksydacyjnego o dużej pojemności. Redukcja puli GSH prowadzi więc do osłabienia zdolności obronnych komórki.

Celem pracy było zbadanie kluczowych czynników regulujących funkcjonowanie bariery śluzówkowej w doświadczalnym modelu stresowym i wykazanie związku ich działania z efektami stresu oksydacyjnego. Badania dotyczyły ustalenia roli NO, poprzez podanie jego donorów (SIN-1, SNAP, nitrogliceryny, NO-aspiryny), a także substancji wpływających na endogenne uwalnianie NO (pentoksyfiliny, L-NNA, L-argininy). Dokonano także oceny roli prostaglandyn, używając selektywnych i nieselektywnych blokerów cyklooksygenazy (aspiryny, SC-560, resveratrolu, rofekoksybu). Określono także rolę czuciowych włókien aferentnych (włókna C) poprzez zniszczenie ich dużymi dawkami kapsaicyny.

Eksperymenty zostały przeprowadzone na modelu zwierzęcym *in vivo* (szczury rasy Wistar). Zastosowano ogólnoustrojowy sposób wywoływania uszkodzeń błony śluzowej żołądka: 3,5-godzinny stres wodny z oziębieniem w wodzie o temperaturze 20°C i z unieruchomieniem (WRS). W modelu tym (WRS) obserwuje się powstawanie licznych uszkodzeń błony śluzowej żołądka, z towarzyszącą redukcją żołądkowego przepływu krwi. W tkankach stwierdza się nasilenie peroksydacji lipidów (wzrost MDA + 4-HNE) i zmniejszenie efektywności mechanizmów antyoksydacyjnych (spadek SOD i GSH). Wykazano, iż zwiększeniu liczby powstających uszkodzeń w modelu stresowym (WRS), wskutek podawania substancji uszkodzających (SC-560, rofekoksyb, odnerwienie kapsaicynowe), z reguły towarzyszy wzrost tkankowego stężenia MDA i 4-HNE, spadek aktywności SOD i uszczuplenie puli GSH. Natomiast substancje o dzia-

łaniu ochronnym, zmniejszające stresową destrukcję błony śluzowej (SIN-1, SNAP, nitrogliceryna, NO-aspiryna, pentoksyfilina, resveratrol), powodują odwrotne zmiany głównych parametrów biologicznych skutków działania wolnych rodników tlenowych (spadek MDA + 4-HNE, wzrost SOD i GSH). Na uwagę zasługuje tu resveratrol i aspiryna. Resveratrol, mimo blokowania cyklooksygenazy, okazał się substancją o działaniu ochronnym, w modelu WRS, ze względu na właściwości zmiataacza wolnych rodników tlenowych. Natomiast aspiryna, będąca, w tym modelu, substancją zwiększającą liczbę uszkodzeń, nie powodowała oczekiwanych zmian parametrów stresu oksydacyjnego, co sugeruje, że jej działanie uszkodzające, w tym modelu, ma inny mechanizm (np. blokowanie produkcji prostaglandyn).

W związku z tym, że niektóre z wymienionych substancji są używane jako leki (aspiryna, nitrogliceryna, pentoksyfilina) lub są metabolitami leków (SIN-1 – metabolit molsydominy), uzyskane wyniki mogą być przydatne do pełniejszego zrozumienia mechanizmów działań ubocznych leków na błonę śluzową żołądka w warunkach stresowych. Ponadto kierunek badań, zgodny z wytycznymi tej pracy, daje możliwość opracowania nieinwazyjnej metody pośredniej oceny oksydacyjnego uszkodzenia tkanek, przydatnej w warunkach klinicznych.

## 8. PIŚMIENNICTWO

- [1] Alary J., Gueraud F., Cravedi J.P.: Fate of 4-hydroxynonenal in vivo: disposition and metabolic pathways. *Mol. Aspects Med.* 2003, 24(4–5), 177–187.
- [2] Altinkaynak K., Suleyman H., Akcay F.: Effect of nimesulidine, rofecoxib and celecoxib on gastric tissue glutathione level in rats with indomethacin-induced gastric ulcerations. *Pol. J. Pharmacol.* 2003, 55(4), 645–648.
- [3] Amstad P., Moret R., Ceruti P.: Glutathione peroxidase compensates for the hypersensitivity of Cu,Zn- superoxide dismutase overproducers to oxidant stress. *J. Biol. Chem.* 1994, 269(3), 1606–1609.
- [4] Anders M.W., Dekant W.: Glutathione-dependent bioactivations of haloalkens. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1998, 38, 501–537.
- [5] Askew S.C., Butler A.R., Flitney F.W., Kemp G.D., Megson I.L.: Chemical mechanisms underlying the vasodilator and platelet anti-aggregating properties of S-nitroso-N-acetyl-DL-penicillamine and S-nitrosoglutathione. *Bioorg. Med. Chem.* 1995, 3, 1–9.
- [6] Awasthi Y.C., Sharma R., Cheng J.Z., Yang Y., Sharma A., Singhal S.S., Awasthi S.: Role of 4-hydroxynonenal in stress-mediated apoptosis signaling. *Mol. Aspects Med.* 2003, 24(4–5), 219–230.
- [7] Axelsson K.L., Andersson R.G.: Tolerance towards nitroglycerin, induced in vivo, is correlated to a reduced cGMP response and an alteration in cGMP turnover. *Eur. J. Pharmacol.* 1983, 88, 71–79.
- [8] Banach M., Rysz J., Zaslonka J., Ostrowski S., Okoński P.: Kardioprotekcyjny wpływ podawania trimetazydyny u pacjentów poddanych rewaskularyzacji chirurgicznej serca. *Przewodnik Lekarza* 2005, 4, 48–53.
- [9] Bartosz G.: *Druga twarz tlenu*. PWN, Warszawa 2003.
- [10] Bartosz G.: Metabolizm glutationu. *Postępy Biochemii* 1993, 39(1), 32–38.
- [11] Bellavite P., Dri P., della Bianca V., Serra M.C.: The measurement of superoxide anion production by granulocytes in whole blood. A clinical test for the evaluation of phagocyte function and serum opsonic capacity. *Eur. J. Clin. Invest.* 1983, 13, 363–368.
- [12] Bełtowski J., Wójcicka G., Górny D., Marciniak A.: The effect of dietary-induced obesity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and total plasma antioxidant capacity. *J. Physiol. Pharmacol.* 2000, 51(4), 883–896.
- [13] Berndt G., Grosser N., Hoogstraate J., Schroder H.: AZD 3582 increases heme oxygenase-1 expression and antioxidant activity in vascular endothelial and gastric mucosal cells. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2005, 25, 229–235.
- [14] Bhattacharyya J., Chowdhury T.D., Datta A.G.: Effect of endotoxin on protein degradation and lipid peroxidation of erythrocytes. *J. Physiol. Pharmacol.* 1999, 50, 321–326.
- [15] Biernat J., Pawlik W.W., Sendur R., Dembiński A., Brzozowski T., Konturek S.J.: Role of afferent nerves and sensory peptides in the mediation of hepatic artery buffer response. *J. Physiol. Pharmacol.* 2005, 56(1), 133–145.

- [16] Bigwood T., Read G.: Pseudo-malonaldehyde activity in the thiobarbituric acid test. *Free Radic. Res. Commun.* 1989, 6, 387–392.
- [17] Bilski J., Konturek S.J., Bielański W.: Role of endogenous nitric oxide in the control of exocrine and endocrine pancreatic secretion. *J. Physiol. Pharmacol.* 1995, 46(4), 447–462.
- [18] Blandizzi C., Fornai M., Colluci R., Natale G., Lubrano V., Vassale C., Antonioli L., Lazzeri G., del Tacca M.: Lansoprazole prevents experimental gastric injury induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs through a reduction of mucosal oxidative damage. *World J. Gastroenterol.* 2005, 11, 4052–4060.
- [19] Blum J., Fridovich I.: Inactivation of glutathione peroxidase by superoxide radical. *Arch. Biophys.* 1985, 240, 500.
- [20] Bolla M., Momi S., Gresele P., del Soldato P.: Nitric oxide – donating aspirin (NCX 4016): an overview of its pharmacological properties and clinical perspectives. *Int. J. Cardiol.* 2006, 112(3), 359–366.
- [21] Boon P.J., Marinho H.S., Oosting R., Mulder G.J.: Glutathione conjugation of 4-hydroxy-trans-2,3-nonenal in the rat in vivo, the isolated perfused liver and erythrocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1999, 159, 214–223.
- [22] Braganza J.M.: Towards a novel treatment strategy for acute pancreatitis. *Digestion* 2001, 63, 69–91.
- [23] Brovkovich V., Patton S., Brovkovich S., Kiechle F., Huk I., Maliński T.: In situ measurement of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite during endotoxemia. *J. Physiol. Pharmacol.* 1997, 48(4), 633–644.
- [24] Brown J.F., Hanson P.J., Whittle B.J.: The nitric oxide donor, S-nitroso-N-acetyl-penicillamine, inhibits secretory activity in rat isolated parietal cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993, 195(3), 1354–1359.
- [25] Brzozowska I., Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J., Kwiecień S., Pajdo R., Drozdowicz D., Pawlik M., Ptak A., Hahn E.G.: Role of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and gastrin in acceleration of ulcer healing by melatonin and its precursor, L-tryptophan. *J. Pineal. Res.* 2002, 32, 149–162.
- [26] Brzozowska I., Targosz A., Śliwowski Z., Kwiecień S., Drozdowicz D., Pajdo R., Konturek P.C., Brzozowski T., Pawlik M., Konturek S.J., Pawlik W.W., Hahn E.G.: Healing of chronic gastric ulcers in diabetic rats treated with native aspirin, nitric oxide (NO)-derivative of aspirin and cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004, 55(4), 773–790.
- [27] Brzozowski T.: Gastroprotekcja in vivo i in vitro. *Pat. Pol.* 1992, 43(1), 1–19.
- [28] Brzozowski T., Drozdowicz D., Szlachcic A., Pytko-Polończyk J., Majka J., Konturek S.J.: Role of nitric oxide and prostaglandins in gastroprotection induced by capsaicin and papaverine. *Digestion* 1993, 54, 24–31.
- [29] Brzozowski T., Konturek P.C., Drozdowicz D., Konturek S.J., Zayachivska O., Pajdo R., Kwiecień S., Pawlik W.W., Hahn E.G.: Grapefruit-seed extract attenuates ethanol- and stress-induced gastric lesions *via* activation of prostaglandin, nitric oxide and sensory nerve pathways. *World J. Gastroenterol.* 2005, 11, 6450–6458.
- [30] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Brzozowska I., Kwiecień S., Hahn E.G.: Involvement of ornithine decarboxylase and polyamines in epidermal growth factor-induced recovery of gastric mucosa from gastric lesions provoked by stress. *Regul. Pept.* 1998, 74, 73–84.
- [31] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Drozdowicz D., Kwiecień S., Pajdo R., Bielański W., Hahn E.G.: Role of gastric acid secretion in progression of acute gastric erosions induced by ischemia – reperfusion into gastric ulcers. *Eur. J. Pharmacol.* 2000, 398, 147–158.
- [32] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Kwiecień S., Drozdowicz D., Bielański W., Pajdo R., Ptak A., Nikiforuk A., Pawlik W.W., Hahn E.G.: Exogenous and endogenous

- ghrelin in gastroprotection against stress-induced gastric damage. *Regulatory Peptides* 2004, 120, 39–51.
- [33] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Kwiecień S., Pajdo R., Brzozowska I., Hahn E.G.: Involvement of endogenous cholecystokinin and somatostatin in gastroprotection, induced by intraduodenal fat. *J. Clin. Gastroenterol.* 1998, 27 (Suppl. 1), 125–137.
- [34] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Kwiecień S., Pajdo R., Drozdowicz D.: Nitric oxide (NO)-releasing aspirin, a new class of gastric sparing NSAID derivative with gastroprotective and ulcer healing properties. *Curr. Topics Pharmacol.* 2005, 9(1), 17–31.
- [35] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Kwiecień S., Pajdo R., Drozdowicz D., Ptak A., Pawlik M., Hahn E.G.: Involvement of gastrin in gastric secretory and protective actions of N-alpha-methyl histamine. *J. Physiol. Paris* 2001, 95, 89–98.
- [36] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Kwiecień S., Pajdo R., Karczewska E., Stachura J., Hahn E.G.: Water extracts of *Helicobacter pylori* delay healing of chronic gastric ulcers in rats: role of cytokines and gastrin-somatostatin link. *Digestion* 1999, 60, 22–33.
- [37] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Kwiecień S., Śliwowski Z., Pajdo R., Duda A., Ptak A., Hahn E.G.: Implications of reactive oxygen species and cytokines in gastroprotection against stress-induced gastric damage by nitric oxide releasing aspirin. *Int. J. Colorectal Dis.* 2003, 18, 320–329.
- [38] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Pajdo R., Drozdowicz D., Kwiecień S., Hahn E.G.: Acceleration of ulcer healing by cholecystokinin (CCK): role of CCK-A receptors, somatostatin, nitric oxide and sensory nerves. *Regulatory Peptides* 1999, 82, 19–33.
- [39] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Pajdo R., Kwiecień S., Pawlik M., Drozdowicz D., Śliwowski Z., Pawlik W.W.: Ischemic preconditioning of remote organs attenuates gastric ischemia-reperfusion injury through involvement of prostaglandins and sensory nerves. *Eur. J. Pharmacol.* 2004, 499, 201–213.
- [40] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Pajdo R., Schuppan D., Drozdowicz D., Ptak A., Pawlik M., Nakamura T., Hahn E.G.: Involvement of cyclooxygenase (COX-2) products in acceleration of ulcer healing by gastrin and hepatocyte growth factor. *J. Physiol. Pharmacol.* 2000, 51, 751–773.
- [41] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Pierzchalski P., Bielański W., Pajdo R., Drozdowicz D., Kwiecień S., Hahn E.G.: Central leptin and cholecystokinin in gastroprotection against ethanol-induced damage. *Digestion* 2000, 62, 126–142.
- [42] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Schuppan D., Drozdowicz D., Kwiecień S., Majka J., Nakamura T., Hahn E.G.: Effect of local application of growth factors on gastric ulcer healing and mucosal expression of cyclooxygenase-1 and -2. *Digestion* 2001, 64, 15–29.
- [43] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Śliwowski Z., Drozdowicz D., Kwiecień S., Pajdo R., Ptak A., Pawlik M., Hahn E.G.: Gastroprotective and ulcer healing effects of nitric oxide-releasing non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Digest. Liver Dis.* 2000, 32, 583–594.
- [44] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Śliwowski Z., Drozdowicz D., Stachura J., Pajdo R., Hahn E.G.: Role of prostaglandins generated by cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in healing of ischemia-reperfusion-induced gastric lesions. *Eur. J. Pharmacol.* 1999, 385, 47–61.
- [45] Brzozowski T., Konturek P.C., Kwiecień S., Konturek S.J., Pajdo R., Drozdowicz D., Ptak A., Pawlik M., Stachura J., Pawlik W.W., Hahn E.G.: Triple eradication therapy counteracts functional impairment associated with *Helicobacter pylori* infection in mongolian gerbils. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54(1), 33–51.
- [46] Brzozowski T., Konturek P.C., Mierzwa M., Drozdowicz D., Bielański W., Kwiecień S., Konturek S.J., Stachura J., Pawlik W.W., Hahn E.G.: Effect of probiotics and triple eradication therapy on the cyclooxygenase (COX)-2 expression, apoptosis and functional gas-



- tric mucosal impairment in *Helicobacter pylori*-infected mongolian gerbils. *Helicobacter* 2006, 11, 10–20.
- [47] Brzozowski T., Konturek P.C., Moran A.P., Kwiecień S., Pajdo R., Konturek S.J., Drozdowicz D., Ptak A., Pawlik W., Hahn E.G.: Enhanced resistance of gastric mucosa to damaging agents in the rat stomach adapted to *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *Digestion* 2003, 67, 195–208.
- [48] Brzozowski T., Konturek P.C., Moran A.P., Pajdo R., Kwiecień S., Konturek S.J., Śliwowski Z., Drozdowicz D., Pawlik W.W., Hahn E.G.: Involvement of capsaicin-sensitive afferent nerves and cholecystokinin 2/gastrin receptors in gastroprotection and adaptation of gastric mucosa to *Helicobacter pylori*-lipopolysaccharide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004, 310, 116–125.
- [49] Brzozowski T., Konturek P.C., Pajdo R., Kwiecień S., Konturek S.J., Targosz A., Burnat G., Cieszkowski J., Pawlik W.W., Hahn E.G.: Agonist of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- $\gamma$ ): a new compound with potent gastroprotective and ulcer healing properties. *Inflammopharmacology* 2005, 13(1–3), 317–330.
- [50] Brzozowski T., Konturek P.C., Pajdo R., Kwiecień S., Ptak A., Śliwowski Z., Drozdowicz D., Pawlik M., Konturek S.J., Hahn E.G.: Brain-gut axis in gastroprotection by leptin and cholecystokinin against ischemia-reperfusion induced gastric lesions. *J. Physiol. Pharmacol.* 2001, 52(4), 583–602.
- [51] Brzozowski T., Konturek P.C., Pajdo R., Kwiecień S., Śliwowski Z., Drozdowicz D., Ptak-Belowska A., Pawlik M., Konturek S.J., Pawlik W.W., Hahn E.G.: Importance of brain-gut axis in the gastroprotection induced by gastric and remote preconditioning. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004, 55(1), 165–177.
- [52] Brzozowski T., Konturek P.C., Pierzchalski P., Konturek S.J., Drozdowicz D., Kwiecień S., Pajdo R., Hahn E.G.: Role of nitric oxide (NO) and sensory nerves in gastroprotective action of leptin and cholecystokinin (CCK) in the rat gastric mucosa. *Neurogastroenterology. From the Basics to the Clinics.* H.J. Krammer & M.V. Singer (ed.). University of Heidelberg, Germany, FALK Symposium 112, 1999, 731–737.
- [53] Brzozowski T., Konturek P.C., Śliwowski Z., Drozdowicz D., Hahn E.G., Konturek S.J.: Importance of nitric oxide and capsaicin-sensitive afferent nerves in healing of stress lesions induced by epidermal growth factor. *J. Clin. Gastroenterol.* 1997, 25 (suppl.1), S28–S38.
- [54] Brzozowski T., Konturek P.C., Śliwowski Z., Drozdowicz D., Kwiecień S., Pawlik M., Pajdo R., Konturek S.J., Pawlik W.W., Hahn E.G.: Neural aspects of ghrelin-induced gastroprotection against mucosal injury induced by noxious agents. *J. Physiol. Pharmacol.* 2006, 57 (suppl. 6), 63–76.
- [55] Brzozowski T., Konturek P.C., Śliwowski Z., Drozdowicz D., Pajdo R., Stachura J., Hahn E.G., Konturek S.J.: Lipopolysaccharide of *Helicobacter pylori* protects gastric mucosa via generation of nitric oxide. *J. Physiol. Pharmacol.* 1997, 48(4), 699–717.
- [56] Brzozowski T., Konturek P.C., Śliwowski Z., Kwiecień S., Drozdowicz D., Pawlik M., Mach K., Konturek S.J., Pawlik W.W.: Interaction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) with *Helicobacter pylori* in the stomach of humans and experimental animals. *J. Physiol. Pharmacol.* 2006, 57 (suppl. 3), 67–79.
- [57] Brzozowski T., Konturek P.C., Śliwowski Z., Pajdo R., Drozdowicz D., Kwiecień S., Burnat G., Konturek S.J., Pawlik W.W.: Prostaglandin/cyclooxygenase pathway in ghrelin-induced gastroprotection against ischemia-reperfusion injury. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006, 319, 477–487.
- [58] Brzozowski T., Konturek S.J., Brzozowska I., Śliwowski Z., Drozdowicz D., Zaczek M.: Role of L-arginine, a substrate for nitric oxide-synthase, in gastroprotection and ulcer healing. *Gastroenterol. Pol.* 1997, 4, 339–349.

- [59] Brzozowski T., Konturek S.J., Drozdowicz D., Dembiński A., Stachura J., Pytko-Polończyk J.: Healing of chronic gastric ulceration by L-arginine. Role of endogenous prostaglandins, nitric oxide and polyamines. *Digestion* 1995, 56, 463–471.
- [60] Brzozowski T., Konturek S.J., Kwiecień S., Pajdo R., Drozdowicz D., Śliwowski Z., Muramatsu M.: SU-480, a novel synthetic flavonoid derivative of sophoradin, with potent gastroprotective and ulcer healing activity. *J. Physiol. Pharmacol.* 1998, 49, 83–98.
- [61] Brzozowski T., Konturek S.J., Pawlik W.: Niesteroidowe leki przeciwzapalne i produkty cyklooksygenaz (COX) w doświadczalnych i klinicznych badaniach mechanizmów obronnych błony śluzowej żołądka. *Gastroenterol. Pol.* 2003, 10(1), 41–53.
- [62] Brzozowski T., Konturek S.J., Śliwowski Z., Pytko-Polończyk J., Szlachcic A., Drozdowicz D.: Role of capsaicin-sensitive sensory nerves in gastroprotection against acid-independent and acid-dependent ulcerogenesis. *Digestion* 1996, 57, 424–432.
- [63] Brzozowski T., Kwiecień S., Konturek P.C., Konturek S.J., Ptak A., Mitis-Musiół M., Duda A., Bielański W., Hahn E.G.: Comparison of nitric oxide-releasing NSAID and vitamin C with classic NSAID in healing of chronic gastric ulcers; involvement of reactive oxygen species. *Med. Sci. Monit.* 2001, 7(4), 592–599.
- [64] Brzozowski T., Kwiecień S., Konturek S.J., Drozdowicz D., Pajdo R., Mierzwa M.: Rola produktów cyklooksygenazy COX-1 i COX-2 oraz niesteroidowych leków przeciwzapalnych w mechanizmach obronnych błony śluzowej żołądka. *Problemy Terapii Monitorowanej* 2002, 13 (suppl. 1), 12–22.
- [65] Brzozowski T., Ptak A., Kwiecień S., Pajdo R., Drozdowicz D., Pawlik M., Konturek S.J., Pawlik W.W.: Importance of nitric oxide (NO) and adenosine in the mechanism of gastric preconditioning induced by short ischemia. *Annales Academiae Medicae Bialostocensis* 2003, 48, 42–47.
- [66] Brzozowski T., Zwolińska-Weisło M., Konturek P.C., Kwiecień S., Drozdowicz D., Konturek S.J., Stachura J., Budak A., Bogdał J., Pawlik W.W., Hahn E.G.: Influence of gastric colonization with *Candida albicans* on ulcer healing in rats: Effect of ranitidine, aspirin and probiotic therapy. *Scand. J. Gastroenterol.* 2005, 40, 286–296.
- [67] Bugajski J., Gądek-Michalska A., Bugajski A.J.: Effect of cyclooxygenase inhibitors on the CRH-induced pituitary-adrenocortical activity during crowding stress. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54(1), 99–108.
- [68] Bugajski J., Gądek-Michalska A., Bugajski A.J.: Effect of cyclooxygenase inhibitors on the vasopressin induced ACTH and corticosterone response during crowding stress. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54(2), 247–256.
- [69] Bugajski A.J., Thor P., Głód R., Gądek-Michalska A., Bugajski J.: Influence of cyclooxygenase inhibitors on the central histaminergic stimulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54(4), 643–652.
- [70] Burke T.K., Teng X., Patel R.P., Baldwin A.L.: Effects of S-nitrosation on hemoglobin-induced microvascular damage. *Antiox. Redox. Signal.* 2006, 8, 1093–1101.
- [71] Casini A., Ceni E., Salzano R., Biondi P., Parola M., Galli A., Foschi M., Caligiuri A., Pinzani M., Surrenti C.: Neutrophil-derived superoxide anion induces lipid peroxidation and stimulates collagen synthesis in human hepatic stellate cells; role of nitric oxide. *Hepatology* 1997, 25(2), 361–367.
- [72] Chambers D.E., Parks D.A., Patterson G., Roy R., McCord J.M., Yoshida S., Parmley L.F., Downey J.M.: Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1985, 17(2), 145–152.
- [73] Chamulirat W., Skrepnik N.V., Spitzer J.J.: Endotoxin-induced oxidative stress in the rat small intestine: role of nitric oxide. *Shock* 1996, 5(3), 217–222.
- [74] Channon K.M., Guzik T.J.: Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *J. Physiol. Pharmacol.* 2002, 53(4), 515–524.

- [75] Cheng Z.J., Tikkanen I., Hapaatalo H., Mervaala E.M.A.: Vascular effects of cox inhibition and AT<sub>1</sub> receptor blockade in transgenic rats harboring mouse renin-2 gene. *J. Physiol. Pharmacol.* 2002, 53 (4), 597–613.
- [76] Chłopicki S.: Wybiórcze inhibitory COX-2 – nowa klasa niesteroidowych leków przeciwzapalnych. *Problemy Terapii Monitorowanej* 2002, 13 (suppl. 1), 3–11.
- [77] Chłopicki S., Gryglewski R.J.: W poszukiwaniu lepszej aspiryny. *Med. Dypl.* 2000, wydanie specjalne, 4–13.
- [78] Chłopicki S., Kozłowski V.I., Gryglewski R.J.: NO-dependent vasodilation induced by nebivolol in coronary circulation is not mediated by  $\beta$ -adrenoceptors or by 5HT<sub>1A</sub> – receptors. *J. Physiol. Pharmacol.* 2002, 53(4), 615–624.
- [79] Cleveland J.L., Kastan M.B.: A radical approach to treatment. *Nature* 2000, 407, 309–311.
- [80] Czeczot H., Ścibior D., Skrzycki M., Podsiad M., Porembka Z.: Glutathione level and activity of GSH-dependent enzymes in gastric carcinoma patients – a preliminary report. *Gastroenterol. Pol.* 2005, 12(2), 107–111.
- [81] Danese S., Cremonini F., Armuzzi A., Candelli M., Papa A., Ojetti V., Pastorelli A., diCaro S., Zannoni G., de Sole P., Gasbarrini G., Gasbarrini A.: Helicobacter pylori CagA-positive strains affect oxygen free radicals generation by gastric mucosa. *Scand. J. Gastroenterol.* 2001, 36, 247–250.
- [82] Davies G.R., Banatvala N., Collins C.E., Sheaff M.T., Abeli Y., Clements L., Rampton D.S.: Relationship between infective load of Helicobacter pylori and reactive oxygen metabolite production in antral mucosa. *Scand J. Gastroenterol.* 1994, 29, 419–424.
- [83] Das U.N.: A radical approach to cancer. *Med. Sci. Monit.* 2002, 8(4), R779–792.
- [84] Dasgupta T., Hebbel R.P., Kaul D.K.: Protective effect of arginine on oxidative stress in transgenic sickle mouse models. *Free Radic. Biol. Med.* 2006, 41(12), 1771–1780.
- [85] Dąbrowski A., Konturek S.J., Konturek J.W., Gabryelewicz A.: Role of oxidative stress in the pathogenesis of caerulein – induced acute pancreatitis. *Eur. J. Pharmacol.* 1999, 377, 1–11.
- [86] Dembińska-Kieć A., Żmuda A., Marcinkiewicz J., Sinzinger H., Gryglewski R.J.: Influence of NO-donor (SIN-1) on functions of inflammatory cells. *Agents Actions* 1991, 1/2, 37–40.
- [87] Deneke S.M.: Thiol-based antioxidants. *Curr. Top. Cell Regul.* 2000, 36, 151–180.
- [88] Derin N., Izgut-Uysal V.N., Agac A., Aliciguzel Y., Demir N.: L-carnitine protects gastric mucosa by decreasing ischemia-reperfusion induced lipid peroxidation. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004, 55(3), 595–606.
- [89] Deshmukh D.R., Mirochnitchenko O., Ghole V.S., Agnese D., Shah P.C., Reddell M., Brodin R.E., Inouye M.: Intestinal ischemia and reperfusion injury in transgenic mice overexpressing copper-zinc superoxide dismutase. *Am. J. Physiol.* 1997, 273, C1130–1135.
- [90] Dianzani M.U.: 4-hydroxynonenal from pathology to physiology. *Mol. Aspects Med.* 2003, 24, 263–272.
- [91] Dix T.A., Aikens J.: Mechanisms and biological relevance of lipid peroxidation initiation. *Chem. Res. Toxicol.* 1993, 6, 2–18.
- [92] Dmoszyńska A., Janicki K., Janicka L., Przesmycki K., Sokołowska B., Walter-Croneck A.: Influence of indobufen on occlusion of arteriovenous fistulas and some platelet activity in intermittent peritoneal dialysis patients. *Pol. J. Pharmacol.* 1996, 48(3), 327–329.
- [93] Drew J.E., Arthur J.R., Farquharson A.J., Russell W.R., Morrice P.C., Duthie G.G.: Salicylic acid modulates oxidative stress and glutathione peroxidase activity in the rat colon. *Biochem. Pharmacol.* 2005, 70(6), 888–893.
- [94] Drew J.E., Paridar S., Horgan G., Duthie G.G., Russell W.R., Reid M., Duncan G., Rucklidge G.J.: Salicylate modulates oxidative stress in the rat colon: a proteomic approach. *Biochem. Pharmacol.* 2006, 72(2), 204–216.
- [95] Emergul E.: Development of a new biosensor for superoxide radicals. *Annal. Bioanal. Chem.* 2005, 383(6), 947–954.

- [96] Erin N., Ercan F., Yegen B., Arbak S., Okar I., Oktay S.: Role of capsaicin-sensitive nerves in gastric and hepatic injury induced by cold-restraint stress. *Dig. Dis. Sci.* 2000, 45, 1889–1899.
- [97] Ernst H., Konturek P.C., Brzozowski T., Lochs H., Hahn E.G., Konturek S.J.: Adaptation of gastric mucosa to stress. Effect of ranitidine. *J. Physiol. Pharmacol.* 1998, 49(3), 405–419.
- [98] Esterbauer H., Schaur R.J., Zollner H.: Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic. Biol. Med.* 1991, 11, 81–128.
- [99] Eylol V., Kotyzova D., Leseticky L., Bludovska M., Koutensky J.: The influence of curcumin and cadmium-induced oxidative damage and trace elements status in tissues of mice. *J. Appl. Toxicol.* 2006, 26(3), 207–212.
- [100] Farkas R., Selmeci L., Tulassay Z., Pronai L.: Superoxide dismutase activity of the gastric mucosa in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Anticancer Res.* 2003, 23, 4309–4312.
- [101] Faulkner K., Fridovich I.: Luminol and lucigenin as detectors for O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. *Free Radic. Biol. Med.* 1993, 15, 447–451.
- [102] Fesharaki M., Nasimi A., Mokhtari R., Moradian R., Amirpoor N.: Reactive oxygen metabolites and anti-oxidative defense in aspirin-induced gastric damage in rats. *Gatroprotection by vitamin E. Patophysiology* 2006, 13(4), 237–243.
- [103] Fiorucci S, Santucci L, Federici B.: Nitric oxide-releasing NSAIDs inhibit interleukin-1 beta converting enzyme-like cysteine proteases and protect endothelial cells from apoptosis induced by TNF alpha. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1999, 13(3), 421–435.
- [104] Fisher C.L., Cabelli D.E., Tainer J.A., Hallewell R.A., Getzoff E.D.: The role of arginine 143 in the electrostatics and mechanism of Cu, Zn superoxide dismutase: computational and experimental evaluation by mutational analysis. *Proteins* 1994, 19, 24–34.
- [105] Forman H.J., Thomas M.J.: Oxidant production and bactericidal activity of phagocytes. *Annu. Rev. Physiol.* 1986, 48, 669.
- [106] Furse K.E., Pratt D.A., Schneider C., Brash A.R., Porter N.A., Lybrand T.P.: Molecular dynamics simulation of arachidonic acid – derived pentaadienyl radical intermediate complex with COX-1 and COX-2: insights into oxygenation regio- and stereoselectivity. *Biochemistry* 2006, 45(10), 3206–3218.
- [107] Gao J., Liu X., Rigas B.: Nitric oxide – donating aspirin induces apoptosis in human colon cancer cells through induction of oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102(47), 17207–17212.
- [108] Getzoff E.D., Tainer J.A., Weiner P.K., Kollman P.A., Richardson D.C.: Electrostatic recognition between superoxide and copper, zinc superoxide dismutase. *Nature* 1983, 306, 287–290.
- [109] Gębicki S., Gębicki J.M.: Formation of peroxides in amino acids and proteins exposed to oxygen free radicals. *J. Biochem.* 1993, 289, 743–749.
- [110] Gibson T.M., Cotter M.A., Cameron N.E.: Effect of poly(ADP-ribose) polymerase inhibition on dysfunction of non-adrenergic non-cholinergic neurotransmission in gastric fundus in diabetic rats. *Nitric Oxide* 2006, 15(4), 344–350.
- [111] Gorelik S., Lapidot T., Shaham I., Granit R., Ligumsky M., Kohen R., Kanner J.: Lipid peroxidation and coupled vitamin oxidation in simulated and human gastric fluid inhibited by dietary polyphenols: health implications. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53(9), 3397–4402.
- [112] Gorman A.A., Rodgers M.A.: Current perspectives of singlet oxygen detection in biological environments. *J. Photochem. Photobiol.* 1992, 14, 159–176.
- [113] Griendling K.K., Sorescu D., Ushio-Fukai M.: NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ. Res.* 2000, 86, 494–501.
- [114] Grisham M.B., von Ritter Ch., Smith B.F., Lamont J.T., Granger D.N.: Interaction between oxygen radicals and gastric mucin. *Am. J. Physiol.* 1987, 253, 93–96.

- [115] Guzik T.J., Korbut R., Adamek-Guzik T.: Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54(4), 469–487.
- [116] Guzik T.J., Mussa S., Gastaldi D.: Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus. Role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide. *Circulation* 2002, 105, 1656–1662.
- [117] Guzik T.J., Olszanecki R., Sadowski J., Kapelak B., Rudziński P., Jopek A., Kawczyńska A., Ryszawa N., Loster J., Jawień J., Cześnikiewicz-Guzik M., Channon K.M., Korbut R.: Superoxide dismutase activity and expression in human venous and arterial bypass graft vessels. *J. Physiol. Pharmacol.* 2005, 56(2), 313–323.
- [118] Guzik T.J., West N.F.J., Black E.: Vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase; association with endothelial dysfunction and clinical risk factor. *Circ. Res.* 2000, 86, E85–E90.
- [119] Halliwell B.: How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.* 1990, 9, 1–32.
- [120] Heeringa P., Bijl M., de Jager Krikken A., Zandvoort A., Dijkstra G., Moshage H., Tervaert J.W., Tiebosch A.T., Kallenberg C.G., van Goor H.: Renal expression of endothelial and inducible nitric oxide synthase, and formation of peroxynitrite-modified proteins and reactive oxygen species in Wegener's granulomatosis. *J. Pathol.* 2001, 193(2), 224–232.
- [121] Henderson L.M., Chappell J.B.: NADPH oxidase of neutrophils. *Biochem. Biophys. Acta* 1996, 1273, 87–107.
- [122] Hildeman D.A., Mitchell T., Kappler J., Marrack P.: T cell apoptosis and reactive oxygen species. *J. Clin. Invest.* 2003, 111, 575–581.
- [123] Hoffmann T., Meyer R.J., Sorrell M.F., Tuma D.J.: Reaction of acetaldehyde with proteins: formation of stable fluorescent adducts. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1993, 17, 69–74.
- [124] Horie Y., Wolf R., Flores S.C., McCord J.M., Epstein C.J., Granger D.N.: Transgenic mice with increased copper/zinc-superoxide dismutase activity are resistant to hepatic leukostasis and capillary no-reflow after gut ischemia/reperfusion. *Circ. Res.* 1998, 83(7), 691–696.
- [125] Hottenstein O.D., Pawlik W.W., Remak G., Jacobson E.D.: Capsaicin-sensitive nerves modulate reactive hyperemia in rat gut. *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.* 1992, 199, 311–320.
- [126] Hung C.R.: Effect of taurine on gastric oxidative stress and hemorrhagic erosion in brain ischemic rats. *Chin. J. Physiol.* 2006, 49(3), 152–159.
- [127] Hung C.R.: Role of gastric oxidative stress and nitric oxide in formation of hemorrhagic erosion in rats with ischemic brain. *World J. Gastroenterol.* 2006, 12(4), 547–581.
- [128] Ignarro L.J.: Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J. Physiol. Pharmacol.* 2002, 53(4), 503–514.
- [129] Ignýś I., Krauss H., Cichy W.: Wpływ suplementacji witaminą C na stan antyoksydacyjny osocza u dzieci z przewlekłym zapaleniem błony śluzowej żołądka i/lub owrzodzeniem dwunastnicy. *Gastroenterol. Pol.* 2001, 8(2), 127–132.
- [130] Inauen W., Wyss P.A., Kayser S., Baumgarten A., Schurer-Maly C.C., Koezl H.R., Halter F.: Influence of prostaglandins, omeprazole and indomethacin on healing of experimental gastric ulcers in rat. *Gastroenterology* 1998, 95, 636–641.
- [131] Ishii K.B., Chang B., Kerwin J.F., Huang Z.J., Murad F.: N-nitro-L-arginine a potent inhibitor of endothelium-derived relaxing factor formation. *Eur. J. Pharmacol.* 1990, 176, 219–223.
- [132] Ishii Y., Umemura T., Kanki K., Kuroiwa Y., Nishikawa A., Ito R., Saito K., Nakazawa H.: Possible involvement of NO-mediated oxidative stress in induction of rat forestomach damage and cell proliferation by combined treatment with catechol and sodium nitrite. *Arch. Biochem. Biophys.* 2006, 447(2), 127–135.
- [133] Ismail H.A., Khalifa M.M., Hassan M.K., Ashour O.M.: Investigation of the mechanisms underlying the gastroprotective effect of nicorandil. *Pharmacology* 2006, 79(2), 76–85.

- [134] Isozaki Y., Yoshida N., Ichikawa H., Kuroda M., Kokura S., Naito Y., Okanoue T., Yoshikawa T.: A novel water-soluble vitamin E derivative protects against aspirin-induced gastric mucosal injury in rats. *Int. J. Mol. Med.* 2005, 16(6), 1035–1040.
- [135] Ivasenko I.N., Dorofeikov V.V., Shlyatko E.V.: Effect of combined treatment with aspirin and dipyridamole on oxidative homeostasis in mouse serum. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005, 140, 22–24.
- [136] Iwaoka T., Tabata F., Takahashi T.: Lipid peroxidation and lipid peroxide detected by chemiluminescence. *Free Radic. Biol. Med.* 1987, 3, 329–333.
- [137] Jain S.K.: Elevated malonyldialdehyde levels altered membrane lipid asymmetry and hypercoagulability of erythrocytes from newborn infants. *Biomed. Biochem. Acta* 1987, 46, S21–S25.
- [138] Jain S., Thomas M., Kumar G.P., Laloraya M.: Programmed lipid peroxidation of biomembranes generating kinked phospholipids permitting local molecular mobility: a peroxide theory of fluidity management. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993, 195, 574–580.
- [139] Jiang P., Chang L., Pan C.S., Qi Y.F., Tang C.S.: Protective role of methallothionein in stress-induced gastric ulcers in rats. *World J. Gastroenterol.* 2005, 11, 2739–2743.
- [140] Kandilici H.B., Gumusel B., Tapaloglu E., Ucar G., Korkusz P., Ugur Y., Asan E., Demiryurek A.T.: Effects of ischemic preconditioning on rat lung: role of nitric oxide. *Exp. Lung Res.* 2006, 32(7), 287–303.
- [141] Kasazaki K., Yasukawa K., Sano H., Utsumi H.: Non-invasive analysis of reactive oxygen species generated in  $\text{NH}_4\text{OH}$ -induced gastric lesions of rats using a 300MHz  $\text{in vivo}$  ESR technique. *Free Radic. Res.* 2003, 37(7), 757–766.
- [142] Katsuki S., Arnold W., Mittal C., Murad F.: Stimulation of guanylate cyclase by sodium nitroprusside, nitroglycerin and nitric oxide in various tissue preparations and comparison to the effects of sodium azide and hydroxylamine. *J. Cyclic Nucleotide Res.* 1977, 3, 23–35.
- [143] Kaushal M., Gopalan-Kutty N., Mallikarjuna-Rao C.: Wound healing activity of NOE-aspirin. A preclinical study. *Nitric Oxide* 2007, 16(1), 150–156.
- [144] Keller J.N., Kindy M.S., Holtsberg F.W., St-Clair D.K., Yen H.C., Germeyer A., Steiner S.M., Bruce-Keller A.J., Hutchins J.B., Mattson M.P.: Mitochondrial manganese superoxide dismutase prevents neural apoptosis and reduces ischemic brain injury: suppression of peroxynitrite production, lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction. *J. Neurosci.* 1998, 18, 687–697.
- [145] Kempaiah R.K., Manjunatha H., Srinivasan K.: Protective effect of dietary capsaicin on induced oxidation of low-density lipoprotein in rats. *Mol. Cell Biochem.* 2005, 275, 7–13.
- [146] Khayyal M.T., El-Ghazaly M.A., Abdullah D.M., Okpanyi S.N., Kelber O., Weiser D.: Mechanism involved in the anti-inflammatory effect of a standardized willow bark extract. *Arzneimittelforschung* 2005, 55(11), 677–687.
- [147] Kikugawa K., Beppu M.: Involvement of lipid oxidation products in the formation of fluorescent and cross-linked proteins. *Chem. Phys. Lipids* 1987, 44, 277–296.
- [148] Kikugawa K., Kojima T., Kosugi H.: Major thiobarbituric acid – reactive substances of liver homogenate are alkadienals. *Free Radic. Res. Commun.* 1990, 8, 107–113.
- [149] Kirkova M., Ivancheva E., Russanov E.: Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in aspirin-treated rats. *Gen. Pharmacol.* 1995, 26(3), 613–617.
- [150] Kogure K., Goto S., Nishimira M., Yasumoto M., Abe K., Ohiwa C., Sassa H., Kusumi T., Terada H.: Mechanism of potent antiperoxidative effect of capsaicin. *Biochim. Biophys. Acta* 2002, 1573(1), 84–92.
- [151] Konturek J.W.: Cholecystokinin in the control of gastric acid and plasma gastrin and somatostatin secretion in healthy subjects and duodenal ulcer patients before and after eradication of *Helicobacter pylori*. *J. Physiol. Pharmacol.* 1994, 45 (Suppl. 1), 4–59.

- [152] Konturek P.C.: Physiological, immunohistochemical and molecular aspects of gastric adaptation to stress, aspirin and to *H. pylori*-derived gastrot toxins. *J. Physiol. Pharmacol.* 1997, 48, 3–42.
- [153] Konturek P.C., Brzozowski T., Burnat G., Kwiecień S., Pawlik T., Hahn E.G., Konturek S.J.: Role of brain-gut axis in healing of gastric ulcers. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004, 55(1), 179–192.
- [154] Konturek P.C., Brzozowski T., Duda A., Kwiecień S., Löber S., Dembiński A., Hahn E.G., Konturek S.J.: Epidermal growth factor and prostaglandin E<sub>2</sub> accelerate mucosal recovery from stress-induced gastric lesions via inhibition of apoptosis. *J. Physiol. Paris* 2001, 95, 361–367.
- [155] Konturek P.C., Brzozowski T., Kania J., Kukharsky V., Bazela K., Kwiecień S., Harsh I., Konturek S.J., Hahn E.G.: Pioglitazone, a specific ligand of peroxisome proliferator-activated receptor gamma reduces gastric mucosal injury induced by ischemia/reperfusion in rat. *Scand. J. Gastroenterol.* 2003, 3, 468–476.
- [156] Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J.: Współdziałanie *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) i niesterydowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) we wrzodzie trawiennym i jego implikacje kliniczne. *Med. Sci. Rev. Gastroenterol.* 2002, 1, 60–71.
- [157] Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J., Kwiecień S., Dembiński A., Hahn E.G.: Influence of bacterial lipopolysaccharide on healing of chronic experimental ulcer in rat. *Scand. J. Gastroenterol.* 2001, 12, 1239–1247.
- [158] Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J., Kwiecień S., Pajdo R., Drozdowicz D., Stachura J., Karczewska E., Hahn E.G.: Functional and morphological aspects of *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer in Mongolian gerbils. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2003, 15, 745–754.
- [159] Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J., Pajdo R., Konturek J.W., Kwiecień S., Taut A., Hahn E.G.: Apoptosis in gastric mucosa with stress-induced gastric ulcers. *J. Physiol. Pharmacol.* 1999, 50(2), 211–225.
- [160] Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J., Taut A., Kwiecień S., Pajdo R., Śliwowski Z., Hahn E.G.: Bacterial lipopolysaccharide protects gastric mucosa against acute injury in rats by activation of genes for cyclooxygenases and endogenous prostaglandins. *Digestion* 1998, 59, 284–297.
- [161] Konturek P.C., Brzozowski T., Kwiecień S., Drozdowicz D., Harsch I.A., Meixner H., Stachura J., Hahn E.G., Konturek S.J.: Effect of *Helicobacter pylori* on delay in ulcer healing induced by aspirin in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2002, 451, 191–202.
- [162] Konturek P.C., Brzozowski T., Meixner H., Ptak A., Hahn E.G., Konturek S.J.: Central and peripheral neural aspects of gastroprotective and ulcer healing effects of lipopolysaccharides. *J. Physiol. Pharmacol.* 2001, 52(4), 611–623.
- [163] Konturek P.C., Brzozowski T., Pajdo R., Nikiforuk A., Kwiecień S., Harsch I., Drozdowicz D., Hahn E.G., Konturek S.J.: Ghrelin – a new gastroprotective factor in gastric mucosa. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004, 55(2), 325–336.
- [164] Konturek P.C., Brzozowski T., Pierzchalski P., Kwiecień S., Pajdo R., Hahn E.G.: 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, 767–777.
- [165] Konturek P.C., Brzozowski T., Ptak A., Kania J., Kwiecień S., Hahn E.G., Konturek S.J.: Nitric oxide releasing aspirin protects the gastric mucosa against stress and promotes healing of stress-induced gastric mucosal damage: role of heat shock protein 70. *Digestion* 2002, 66, 160–172.
- [166] Konturek P.C., Duda A., Brzozowski T., Konturek S.J., Kwiecień S., Drozdowicz D., Pajdo R., Meixner H., Hahn E.G.: Activation of genes for superoxide dismutase, interleukin-1 $\beta$ , tumor necrosis factor- $\alpha$  and intercellular adhesion molecule-1 during healing of ischemia – reperfusion gastric injury. *Scand. J. Gastroenterol.* 2000, 35, 452–463.

- [167] Konturek P.C., Hartwich A., Żuchowicz M., Łabza H., Pierzchalski P., Karczewska E., Bielański W., Hahn E.G., Konturek S.J.: *Helicobacter pylori*, gastrin and cyclooxygenase in gastric cancer. *J. Physiol. Pharmacol.* 2000, 51(4), 737–749.
- [168] Konturek P.C., Kania J., Kukharsky V., Ocker S., Hahn E.G., Konturek S.J.: Influence of gastrin on the expression of cyclooxygenase-2, hepatocyte growth factor and apoptosis-related proteins in gastric epithelial cells. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54(1), 17–32.
- [169] Konturek S.J.: *Fizjologia układu trawiennego*. PZWL, Warszawa 1985.
- [170] Konturek S.J., Brzozowski T., Konturek P.C., Kwiecień S., Karczewska E., Drozdowicz D., Stachura J., Hahn E.G.: *Helicobacter pylori* infection delays healing of ischemia – reperfusion induced gastric ulcerations: new animal model for studying pathogenesis and therapy of *H. pylori* infection. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2000, 12, 1299–1313.
- [171] Konturek S.J., Brzozowski T., Majka J., Pytko-Polończyk J., Stachura J.: Inhibition of nitric oxide synthase delays the healing of chronic gastric ulcers. *Eur. J. Pharmacol.* 1993, 239, 215–217.
- [172] Konturek S.J., Brzozowski T., Pajdo R., Konturek P.C., Kwiecień S., Śliwowski Z., Pawlik M., Ptak A., Drozdowicz D., Hahn E.G.: Gastric preconditioning induced by short ischemia: the role of prostaglandins, nitric oxide and adenosine. *Med. Sci. Monit.* 2001, 7(4), 610–621.
- [173] Konturek S.J., Konturek P.C.: Role of nitric oxide in digestive system. *Digestion* 1995, 56, 1–13.
- [174] Konturek S.J., Pawlik W.: Physiology and pharmacology of prostaglandins. *Dig. Dis. Sci.* 1986, 31 (Suppl.), S6–S19.
- [175] Konturek S.J., Pepera J., Zabielski K., Konturek P.C., Pawlik T., Szlachcic A., Hahn E.G.: Brain-gut axis in pancreatic secretion and appetite control. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54(3), 293–317.
- [176] Konturek S.J., Pierzchalski P., Hartwich A., Gonciarz M.: Karcinogeneza żołądka i jelita grubego. Postępy w biologii molekularnej i perspektywy lecznicze. *Med. Sci. Rev. Gastroenterol.* 2002, 1, 39–52.
- [177] Koppenol W.H.: A thermodynamic appraisal of the radical sink hypothesis. *Free Radic. Biol. Med.* 1993, 14, 91–94.
- [178] Korbut R.A., Adamek-Guzik T., Madej J., Korbut R.: Endothelial secretagogues and deformability of erythrocytes. *J. Physiol. Pharmacol.* 2002, 53(4), 655–665.
- [179] Kourie J.I.: Interaction of reactive oxygen species with ion transport mechanisms. *Am. J. Physiol.* 1998, 275, C1–C24.
- [180] Kurzelewski M., Czarnowska E., Borešewicz A.: Superoxide- and nitric oxide-derived species mediate endothelial dysfunction, endothelial glycocalyx disruption and enhanced neutrophil adhesion in the post-ischemic guinea-pig heart. *J. Physiol. Pharmacol.* 2005, 56(2), 163–178.
- [181] Kwiecień S., Brzozowska I., Brzozowski T.: Interakcja *Helicobacter pylori* i niesteroidowych leków przeciwzapalnych w patologii żołądka. *Med. Dypl.* 2006, wydanie specjalne, 13 (supl.), 34–38.
- [182] Kwiecień S., Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J.: The role of reactive oxygen species in action of nitric oxide-donors on stress-induced gastric mucosal lesions. *J. Physiol. Pharmacol.* 2002, 53(4 Pt 2), 761–773.
- [183] Kwiecień S., Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Pawlik M., Pajdo R., Drozdowicz D., Ptak A., Hahn E.G.: Effect of central and peripheral actions of histamine and its metabolite N-alpha methyl histamine on gastric secretion and acute gastric lesions. *J. Physiol. Pharmacol.* 2001, 52(4), 625–638.
- [184] Kwiecień S., Brzozowski T., Konturek P.C., Pawlik M.W., Pawlik W.W., Kwiecień N., Konturek S.J.: Gastroprotection by pentoxifylline against stress-induced gastric damage. Role of lipid peroxidation, antioxidizing enzymes and proinflammatory cytokines. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004, 55(2), 337–355.



- [185] Kwiecień S., Brzozowski T., Konturek P.C., Pawlik M.W., Pawlik W.W., Kwiecień N., Konturek S.J.: The role of reactive oxygen species and capsaicin-sensitive sensory nerves in the pathomechanism of gastric ulcers induced by stress. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54(3), 423–437.
- [186] Kwiecień S., Brzozowski T., Konturek S.J.: Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury. *J. Physiol. Pharmacol.* 2002, 53(1), 39–50.
- [187] Kwiecień S., Brzozowski T., Konturek S.J.: Znaczenie aldehydowych produktów peroksydacji lipidów w doświadczalnych uszkodzeniach błony śluzowej żołądka indukowanych przez aspirynę, stres i ischemię z następową reperfuzją. *Gastroenterol. Pol.* 2002, 9(4), 273–280.
- [188] Kwiecień S., Brzozowski T., Śliwowski Z., Konturek S.J.: Infekcja *Helicobacter pylori* w doświadczalnym modelu uszkodzeń błony śluzowej żołądka powstałych w wyniku ischemii i reperfuzji. *Gastroenterol. Pol.* 2001, 8(2), 111–125.
- [189] Kwiecień S., Konturek S.J.: Choroby czynnościowe przewodu pokarmowego [w:] *Gastroenterologia w praktyce*, red. A. Gabryelewicz. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002, 101–117.
- [190] Kwiecień S., Konturek S.J.: Gastric analysis with fractional test meals (ethanol, caffeine and peptone meal), augmented histamine or pentagastrin tests and gastric pH recording. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54 (suppl. 3), 69–82.
- [191] Kwiecień S., Pawlik M.W., Brzozowska I., Śliwowski Z., Brzozowski T., Pawlik W.W., Kwiecień N., Konturek S.J.: Wpływ substancji naczyniorozszerzających na peroksydację lipidów i mechanizmy antyoksydacyjne w błonie śluzowej żołądka. *Clin. Exp. Med. Lett.* 2005, 46(3), 33–38.
- [192] Lapenna D., Ciofani G., Pierdomenico S.D., Giamberardino M.A., Coccurullo F.: Reaction conditions affecting relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. *Free Radic. Biol. Med.* 2001, 31(3), 331–335.
- [193] Lapidot T., Granit R., Kanner J.: Lipid peroxidation by “free” iron ions and myoglobin as affected by dietary antioxidants in simulated gastric fluids. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53(9), 3383–3390.
- [194] Laurent A., Perdu-Durand E., Alary J., Debrauwer L., Cravedi J.P.: Metabolism of 4-hydroxynonenal, a cytotoxic product of lipid peroxidation, in rat precision-cut liver slices. *Toxicol. Lett.* 2000, 114, 203–214.
- [195] Lekakis J.P., Vamvakou G., Andreadou I., Gariatsos G., Karatsiz E., Protogerou A., Papaioannou T., Ikonomidis I., Papamichael C., Mavrikakis M.E.: Divergent effects of rofecoxib on endothelial function and inflammation in acute coronary syndromes. *J. Pharmacol.* 2005, 57(6), 781–785.
- [196] Li X., Wang L.J., Tang N., Yue H., Huang Y., Lu J., Wang B.: Effects of isovolumetric hemodilution treatment and superoxide dismutase on ischemic reperfused hearts in rabbit. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 1998, 18, 157–163.
- [197] Liu J.X., Li X.Z., Ma X.B., Lin C.R., Wang Y.H., Ma X.Y., Wang M.: Cardioprotective effects of Corocalm on acute myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Chin. J. Integr. Med.* 2006, 12(3), 199–202.
- [198] Liu J., Yeo H.C., Doniger S.J., Ames B.N.: Assay of aldehydes from lipid peroxidation: gas chromatography-mass spectrometry compared to thiobarbituric acid. *Anal. Biochem.* 1997, 245, 161.
- [199] Luqman S., Rizvi S.I.: Protection of lipid peroxidation and carbonyl formation in proteins by capsaicin in human erythrocytes subjected to oxidative stress. *Phytother. Res.* 2006, 20(4), 303–306.
- [200] Ly J.V., Zavaba J.A., Donnan G.A.: Neuroprotection and thrombolysis: combination therapy in acute ischaemic stroke. *Expert. Opin. Pharmacoter.* 2006, 12, 1571–1581.

- [201] Ma J.J., Hou D.Q., Zhang Q.B., Korsten M.A.: Reversal of the gastric effects of nicotine by nitric oxide donor treatment. *Digestion* 2001, 63, 102–107.
- [202] Matsuki A., Igawa A., Nozawa T., Nakadata T., Igarashi N., Nonomura M., Inoue H.: Early administration of fluvastatin, but not at the onset of ischemia or reperfusion, attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury through the nitric oxide pathway rather than its antioxidant property. *Circ. J.* 2006, 70(12), 1643–1649.
- [203] McNaughton W.K., Cirino G., Wallace J.L.: Endothelium-derived relaxing factor (nitric oxide) has protective action in the stomach. *Life Sci.* 1989, 45, 1869–1876.
- [204] Minotti G.: Sources and role of iron in lipid peroxidation. *Chem. Res. Toxicol.* 1993, 6, 134–136.
- [205] Miyamoto S., Dupas C., Murota K., Terao J.: Phospholipid hydroperoxides are detoxified by phospholipase A<sub>2</sub> and GSH peroxidase in rat gastric mucosa. *Lipids* 2003, 38(6), 641–649.
- [206] Murakami M., Asagoe K., Dekigai H., Kusaka S., Saita H., Kita T.: Products of neutrophil metabolism increase ammonia-induced gastric mucosal damage. *Dig. Dis. Sci.* 1995, 40, 268–273.
- [207] Nair P., Kanwar S.S., Sanyal S.N.: Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the antioxidant defense system and the membrane function in the rat intestine. *Nutr. Hosp.* 2006, 21(6), 638–649.
- [208] Naito Y., Yoshikawa T., Yagi N., Matsuyama K., Yoshida N., Seto K., Yoneta T.: Effects of polaprezinc on lipid peroxidation, neutrophil accumulation and TNF-alpha expression in rats with aspirin-induced gastric mucosal injury. *Dig. Dis. Sci.* 2001, 46(4), 845–851.
- [209] Niemela O.: Aldehyde-protein adducts in the liver as a result of ethanol-induced oxidative stress. *Front. Biosci.* 1999, 4, D506–D513.
- [210] Novelli G.P.: Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Pharmacol.* 1997, 48(4), 517–527.
- [211] Ohta Y., Nishida K.: Protective effect of coadministered superoxide dismutase and catalase against stress-induced gastric mucosal lesions. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2003, 30(8), 545–550.
- [212] Okuda M., Hsien-Chang L.: Role of extracellular Ca<sup>++</sup> in ischemia-reperfusion injury in isolated perfused rat liver. *Circ. Shock* 1992, 37, 209–219.
- [213] Olas B., Wachowicz B., Bald E., Głowacki R.: The protective effects of resveratrol against changes in blood platelet thiols induced by platinum compounds. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004, 55(2), 467–476.
- [214] Pajdo R., Brzozowski T., Konturek P.C., Kwiecień S., Konturek S.J., Śliwowski Z., Pawlik M., Ptak A., Drozdowicz D., Hahn E.G.: Ischemic preconditioning, the most effective gastroprotective intervention: involvement of prostaglandins, nitric oxide, adenosine and sensory nerves. *Eur. J. Pharmacol.* 2001, 427, 263–276.
- [215] Palmer R.M.J., Rees D.D., Ashton D.S., Moncada S.: L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988, 153, 1251–1259.
- [216] Parks D.A.: Oxygen radicals: mediators of gastrointestinal pathophysiology. *Gut* 1989, 30, 293–298.
- [217] Parratt J.R.: Nitric oxide. A key mediator in sepsis and endotoxaemia? *J. Physiol. Pharmacol.* 1997, 48(4), 493–506.
- [218] Paul-Clark M.J., van Cao T., Moradi-Bidhendi N., Cooper D., Gilroy D.W.: 15-epi-lipoxin A<sub>4</sub> – mediated induction of nitric oxide explains how aspirin inhibits acute inflammation. *J. Exp. Med.* 2004, 1, 69–78.
- [219] Pawlik M.W., Brzozowski T., Śliwowski Z., Konturek S.J.: Effect of epidermal growth factor (EGF) and polyamines on the healing of gastric mucosal lesions induced by ischemia-reperfusion. *Gastroenterol. Pol.* 2001, 8(4), 307–318.

- [220] Pawlik M.W., Ptak A., Pajdo R., Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J.: Sensory nerves and calcitonin gene related peptide in the effect of ischemic preconditioning on acute and chronic gastric lesions induced by ischemia-reperfusion. *J. Physiol. Pharmacol.* 2001, 52(4), 569–581.
- [221] Pawlik W.W., Obuchowicz R., Biernat J., Sendur R., Jaworek J.: Role of calcitonin gene related peptide in the modulation of intestinal circulatory, metabolic and myoelectric activity during ischemia/reperfusion. *J. Physiol. Pharmacol.* 2000, 51(4), 933–942.
- [222] Pawlik W.W., Obuchowicz R., Pawlik M.W., Sendur R., Biernat J., Brzozowski T., Konturek S.J.: Histamine H<sub>3</sub> receptors modulate reactive hyperemia in rat gut. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004, 55(3), 651–661.
- [223] Pawlik W.W., Thor P., Sendur R., Biernat J., Kozioł R., Wąsowicz P.: Myoelectric bowel activity in ischemia/reperfusion damage. Role of sensory nerves. *J. Physiol. Pharmacol.* 1998, 49(4), 543–551.
- [224] Peskar B.M.: Neural aspects of prostaglandin involvement in gastric mucosal defense. *J. Physiol. Pharmacol.* 2001, 52(4), 555–568.
- [225] Polat A., Emre M.H.: Effect of melatonin or acetylsalicylic acid on gastric oxidative stress after bile duct ligation in rats. *J. Gastroenterol.* 2006, 41(5), 433–439.
- [226] Reguła J.: Niesteroïdowe leki przeciwzapalne ze szczególnym uwzględnieniem efektów ubocznych ze strony przewodu pokarmowego. *Med. Sci. Rev. Gastroenterol.* 2002, 1, 53–59.
- [227] Roda A., Pasini P., Guardigli M., Baraldini M., Musiani M., Mirasoli M.: Bio- and chemiluminescence in bioanalysis. *Fresenius J. Anal. Chem.* 2000, 366, 752–759.
- [228] Roy R.S., McCord J.M.: Superoxide and ischemia conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. Elsevier Science 1983, 145–153.
- [229] Rueckschloss U., Galle J., Holtz J., Zerkowski H.R., Morawietz H.: Induction of NAD(P)H oxidase by oxidized low-density lipoprotein in human endothelial cells: antioxidative potential of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor therapy. *Circulation* 2001, 104, 1767–1772.
- [230] Schaur R.J.: Basic aspects of biochemical reactivity of 4-hydroxynonenal. *Mol. Aspects Med.* 2003, 24, 149–159.
- [231] Shaffer J.E., Han B.J., Chern W.H., Lee F.W.: Lack of tolerance to a 24-hour infusion of S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) in conscious rabbits. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1992, 260, 283–292.
- [232] Shimeda Y., Hironati Y., Akimoto Y., Shindou K., Ijiri Y., Nishihori T., Tanaka K.: Protective effects of capsaicin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2005, 28(9), 1635–1638.
- [233] Siegmund E., Jonas L., Borish I., Fechner V., Kading U., Schroder H.: Different dosages of acetylsalicylic acid lead to adverse modification of the reaction of rat pancreas to ethanol. *Int. J. Pancreatol.* 1998, 23(2), 125–136.
- [234] Siems W., Grune T.: Intracellular metabolism of 4-hydroxynonenal. *Mol. Aspects Med.* 2003, 24, 167–175.
- [235] Simovic M.O., Bonham M.J., Abu-Zidan F.M., Windsor J.A.: Manganese superoxide dismutase: a marker of ischemia-reperfusion injury in acute pancreatitis? *Pancreas* 1997, 15, 78–82.
- [236] Skrzydlewska E., Sułkowski S., Koda M., Zalewski B., Kanczuga-Koda L., Sułkowska M.: Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. *World J. Gastroenterol.* 2005, 11(3), 403–406.
- [237] Smith W.L., Langenbach R.: Why there are two cyclooxygenase isoenzymes. *J. Clin. Invest.* 2001, 107, 1491.
- [238] Stajkowska I., Łuczowska M., Żaba R.: Pentoxyfilina i buflomedil – możliwość zastosowania w dermatologii. *Przewodnik Lekarza* 2003, 9, 42–49.

- [239] Stanimirovic D.B., Markovic M., Micic D.V., Spatz M., Mrsulja B.B.: Liposome-entrapped superoxide dismutase reduces ischemia/reperfusion oxidative stress in gerbil brain. *Neurochem. Res.* 1994, 19, 1473–1478.
- [240] Steer K.A., Wallace T.M., Bolton C.H., Hartog M.: Aspirin protects low density lipoprotein from oxidative modification. *Heart* 1997, 77(4), 333–337.
- [241] Sterini C., Reeve J.R., Brecha N.: Distribution and characterization of calcitonin gene related peptide immunoreactivity in the digestive system of normal and capsaicin-treated rats. *Gastroenterology* 1987, 93, 852–862.
- [242] Styś T., Styś A., Paczwa P., Szczepańska-Sadowska E., Lipkowski A.W.: Decreased hypotensive responsiveness to nitric oxide donor S-nitroso-N-acetyl DL-penicillamine (SNAP) in spontaneously hypertensive (SHR) rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 1998, 49(1), 37–49.
- [243] Suzuki M., Miura S., Suematsu M., Fukumura D., Suzuki H., Kai A., Tsuchiya M.: Helicobacter pylori elicits gastric mucosal cell damage associated with neutrophil-derived toxic oxidants. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1993, 5 (Suppl. 1), 35–39.
- [244] Szcześniak Ł., Karolkiewicz J., Deskur E., Rychlewski T., Konys L., Stankiewicz K.: The influence of exercise-induced oxidative stress on binding and degradation of <sup>125</sup>I-insulin by the receptors on erythrocytes. *J. Physiol. Pharmacol.* 1998, 49(3), 421–432.
- [245] Szlachcic A., Bilski R., Dziadus-Sokołowska A.: The effect of nitric oxide donors and L-arginine on the gastric electrolyte barrier. *J. Physiol. Pharmacol.* 2001, 52(2), 211–220.
- [246] Śliwowski Z., Brzozowski T., Gołombiowska K., Drozdowicz D., Pajdo R., Kwiecień S., Konturek S.J.: Rola układu adrenergicznego w gastroprotekcijnym działaniu nabłonkowego czynnika wzrostu i prostaglandyn. *Gastroenterol. Pol.* 1999, 6, 93–104.
- [247] Tagawa K., Nishida T.: Mechanism of anoxic damage of mitochondrial depletion of intramitochondrial ATP and concomitant release of calcium. *Mol. Physiol.* 1985, 8, 515–524.
- [248] Takagi KY., Kayuya Y., Watanabe K.: Studies on the drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcers in rats. *Chem. Pharm. Bull.* 1964, 12, 465–472.
- [249] Takahashi S., Kobayashi N., Okabe S.: Regulation by endogenous interleukin-1 of mRNA expression of healing-related factors in gastric ulcers in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999, 291, 634–641.
- [250] Takeuchi K., Suzuki K., Yamamoto H., Araki H., Mizoguchi H., Ukawa H.: Cyclooxygenase-2 selective and nitric oxide – releasing nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastric mucosal responses. *J. Physiol. Pharmacol.* 1998, 49(4), 501–513.
- [251] Togashi H., Shinzawa H., Wakabayashi H., Nakamura T., Tomada N., Takahashi T., Ishikawa M.: Activities of free oxygen radical scavenger enzymes in human liver. *J. Hepatol.* 1990, 11, 200–205.
- [252] Touyz R.M., Chen X., Tabet F.: Expression of a functionally active gp91phox-containing neutrophil-type NAD(P)H oxidase in smooth muscle cells from human resistance arteries: regulation of angiotensin II. *Circ. Res.* 2002, 90, 1205–1213.
- [253] Turnbull C.M., Cena C., Fruttero R., Gasco A., Rossi A.G., Megson I.L.: Mechanism of action of novel NO-releasing furoxan derivatives of aspirin in human platelets. *Br. J. Pharmacol.* 2006, 148(4), 517–526.
- [254] Villa A.L., Reginaldo C., Viaro F., Ramalho F., Campos A.D., Evora P.R.: The cytoprotective effect of a nitric oxide donor drug on gastric mucous membrane of rats treated with ketoprofen, a non-steroidal antiinflammatory drug. *Arq. Gastroenterol.* 2006, 43(3), 233–237.
- [255] Wada K., Kamisaki Y., Kitano M., Kishimoto Y., Nakamoto K., Itoh T.: A new gastric ulcer model induced by ischemia-reperfusion in the rat; role of leukocytes on ulceration in rat stomach. *Life Sci.* 1996, 59, 295–301.
- [256] Wang Y., Chen A.F., Wang D.H.: Enhanced oxidative stress in kidneys of salt-sensitive hypertension: role of sensory nerves. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006, 291(6), H3136–H3143.

- [257] Warzecha Z., Dembiński A., Ceranowicz P., Konturek P.C., Niemiec J., Stachura J., Tomaszewska R., Konturek S.J.: The influence of sensory nerves and CGRP on the pancreatic regeneration after repeated episodes of acute pancreatitis in rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 2000, 51(3), 449–461.
- [258] Winterbourn C.C.: Superoxide as an intracellular radical sink. *Free Radic. Biol. Med.* 1993, 14, 85–90.
- [259] Wybrańska I., Miszczuk-Jamska B., Baczyńska E., Goldsztajn P., Sowa G., Przewłocki R., Gryglewski R., Dembińska-Kieć A.: Influence of SIN-1 and sodium nitroprusside (NANP) on OX-LDL metabolism in macrophages. *J. Physiol. Pharmacol.* 1994, 45(3), 387–397.
- [260] Yasukawa K., Kasazaki K., Hyodo F., Utsumi H.: Non-invasive analysis of reactive oxygen species generated in rats with water immersion restraint-induced gastric lesions using in vivo electron spin resonance spectroscopy. *Free Radic. Res.* 2004, 38(2), 147–155.
- [261] Zarkovic N.: 4-hydroxynonenal as a bioactive marker of pathophysiological processes. *Mol. Aspects Med.* 2003, 24, 281–291.
- [262] Zayachivska O.S., Gzhegotsky M.R., Terletska O.I., Lustyk D.A., Yaschenko A.M., Dzhura O.R.: Influence of *Vibrium opulus* proanthocyanidis on stress-induced gastrointestinal mucosal damage. *J. Physiol. Pharmacol.* 2006, 57 (suppl. 5), 155–167.
- [263] Zejc-Bejsarowicz M., Biernat J., Sendur R., Obuchowicz R., Jaworek J., Pawlik W.W.: The role of sensory neurons and neuropeptides in the control of hepatic blood flow and liver protection. *Gastroenterol. Pol.* 2003, 10(3), 215–221.
- [264] Zwolińska-Wcisło M., Brzozowski T., Kwiecień S., Drozdowicz D., Bogdał J., Budak A., Konturek S.J., Pawlik W.: Kolonizacja grzybicza przewodu pokarmowego w badaniach klinicznych i doświadczalnych. *Przewodnik Lekarza* 2003, 9, 81–89.
- [265] Żbikowska H.M., Olas B.: Antioxidants with carcinostatin activity (resveratrol, vitamin E and selenium) in modulation of blood platelet adhesion. *J. Physiol. Pharmacol.* 2000, 51(3), 513–520.

## 9. SPIS RYCIN

Ryc. 1. Czynniki regulujące funkcjonowanie bariery śluzówkowej. Rola, jaką odgrywa kapsaicyna, CGRP (peptyd pochodny genu kalcytoniny), SIN-1 (3-morfolino-sydnonimina), SNAP (S-nitrozo-N-acetyl-D,L-penicylamina), NTG (nitrogliceryna), NO-ASA (NO-aspiryna), PTX (pentoksyfilina), L-NNA (N<sup>o</sup>-nitro-L-arginina), ASA (aspiryna), SC-560 (pochodna pirazolu), rofekoksyb, resveratrol

Ryc. 2. Udział produktów peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE), dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i zredukowanego glutationu (GSH) w przemianach reaktywnych form tlenu

Ryc. 3. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po prawej stronie) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo SIN-1 (5 mg/kg) bądź SNAP (5 mg/kg) lub nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 4. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po prawej stronie) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź NO-aspiryny (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg *i.g.*) i aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 5. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po stronie prawej) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) bądź kombinacji L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) albo zestawu dożołądkowo zaaplikowanej L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) z L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępach 30-minutowych. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 6. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po stronie prawej) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze

20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) bądź dożołądkowym (*i.g.*) podaniu L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji L-arginina (50 mg/kg *i.g.*) + L-NNA (20 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 7. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po stronie prawej) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź SC-560 (5 mg/kg *i.g.*) lub resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*) albo rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 8. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po stronie prawej) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl), SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*), samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą zwierząt otrzymujących placebo bez WRS, u których nie dokonano odnerwienia kapsaicynowego. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS bez odnerwienia kapsaicynowego

Ryc. 9. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po stronie prawej) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) albo dożołądkowym (*i.g.*) zaaplikowaniu aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź obu tych preparatów (PTX + ASA) samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą zwierząt otrzymujących placebo bez WRS, u których nie dokonano odnerwienia kapsaicynowego. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS bez odnerwienia kapsaicynowego

Ryc. 10. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo SIN-1 (5 mg/kg) bądź SNAP (5 mg/kg) lub nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 11. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo SIN-1 (5 mg/kg) bądź SNAP (5 mg/kg) lub nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 12. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka (µmol/g tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS po uprzed-

nim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) lub SIN-1 (5 mg/kg) albo SNAP (5 mg/kg) bądź nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg). Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 13. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź NO-aspiryny (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg *i.g.*) i aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 14. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) lub aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) albo NO-aspiryny (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź kombinacji nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg *i.g.*) i aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 15. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka ( $\mu$ mol/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź NO-aspiryny (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg *i.g.*) i aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 16. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) bądź kombinacji L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) lub zestawu dożołądkowo zaaplikowanej L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) z L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępach 30-minutowych. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 17. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) bądź kombinacji L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) lub zestawu dożołądkowo zaaplikowanej L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) z L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępach 30-minutowych. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 18. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka ( $\mu$ mol/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*)



bądź kombinacji L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) lub zestawu dożołądkowo zaaplikowanej L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) z L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępach 30-minutowych. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 19. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) bądź dożołądkowym (*i.g.*) podaniu L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji L-arginina (50 mg/kg *i.g.*) + L-NNA (20 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 20. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) bądź dożołądkowym (*i.g.*) podaniu L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji L-arginina (50 mg/kg *i.g.*) + L-NNA (20 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 21. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka (μmol/g tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) bądź dożołądkowym (*i.g.*) podaniu L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji L-arginina (50 mg/kg *i.g.*) + L-NNA (20 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 22. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź SC-560 (5 mg/kg *i.g.*) lub resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*) albo rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 23. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź SC-560 (5 mg/kg *i.g.*) lub resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*) albo rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 24. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka (μmol/g tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź SC-560 (5 mg/kg *i.g.*) lub resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*) albo rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porów-

naniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 25. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl), SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*), samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

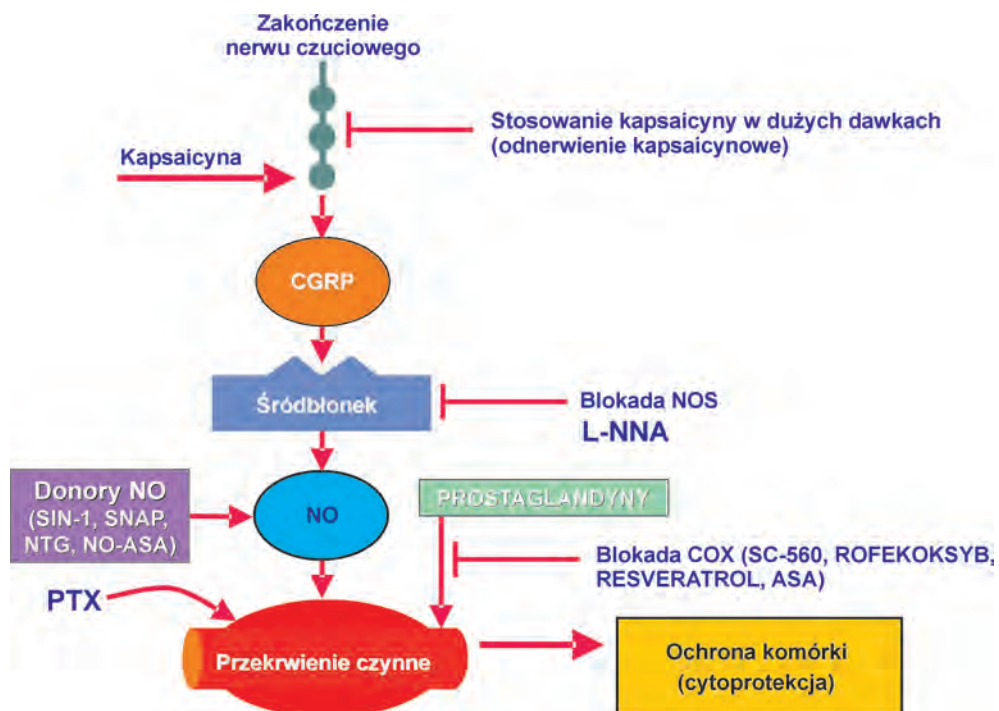
Ryc. 26. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl), SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*), samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 27. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka (µmol/g tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl), SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resveratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*), samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

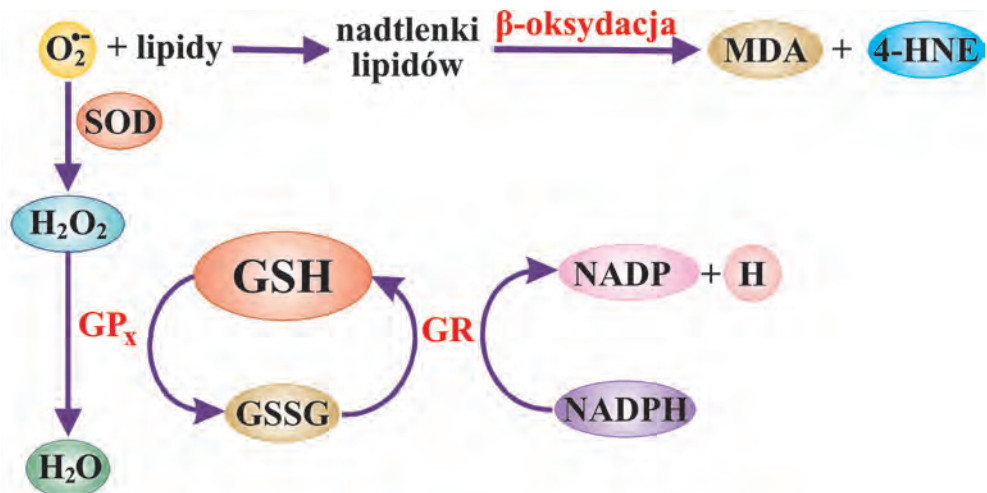
Ryc. 28. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) albo dożołądkowym (*i.g.*) zaaplikowaniu aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź obu tych preparatów (PTX + ASA) samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 29. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) albo dożołądkowym (*i.g.*) zaaplikowaniu aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź obu tych preparatów (PTX + ASA), samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

Ryc. 30. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka (µmol/g tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) albo dożołądkowym (*i.g.*) zaaplikowaniu aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź obu tych preparatów (PTX + ASA) samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



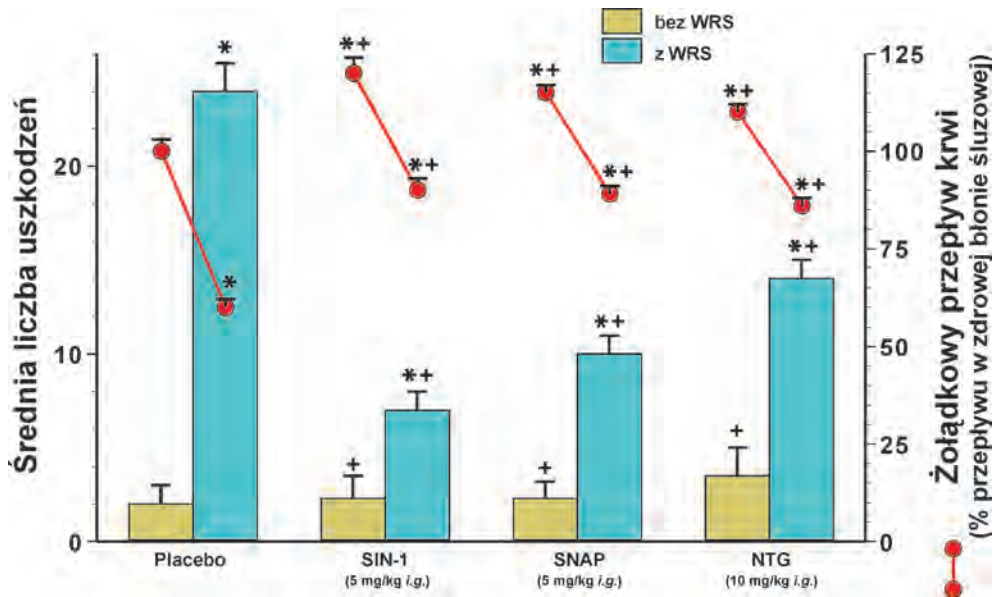
Ryc. 1. Czynniki regulujące funkcjonowanie bariery śluzówkowej. Rola, jaką odgrywa kapsaicyna, CGRP (peptyd pochodny genu kalcytoniny), SIN-1 (3-morfolino-sydnonimina), SNAP (S-nitrozo-N-acetyl-D, L-penicylamina), NTG (nitrogliceryna), NO-ASA (NO-aspiryna), PTX (pentoksyfilina), L-NNA (N<sup>6</sup>-nitro-L-arginina), ASA (aspiryna), SC-560 (pochodna pirazolu), rofekoksyb, resveratrol



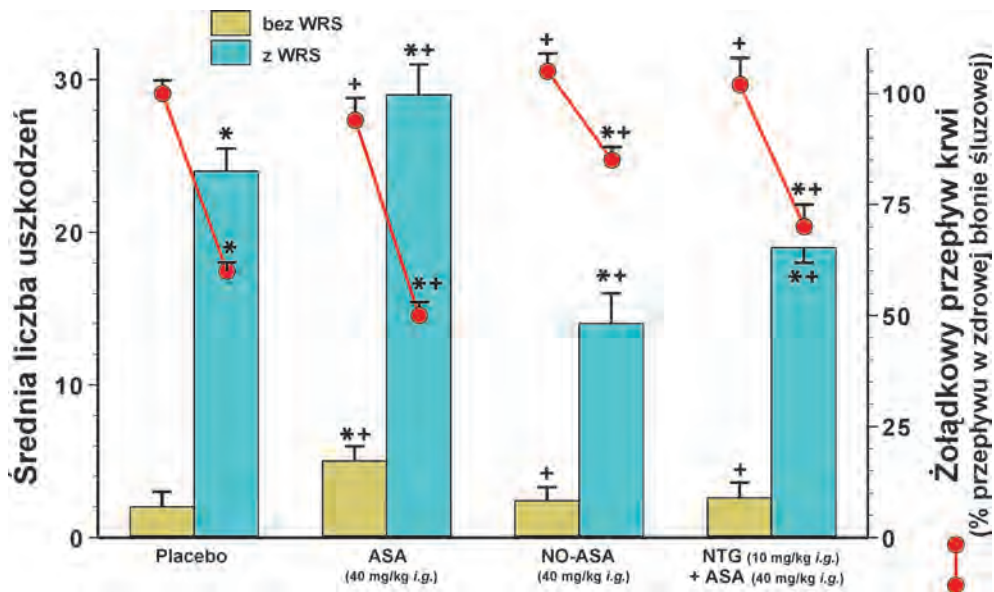
**MDA** – dialdehyd malonowy  
**4-HNE** – 4-hydroksynonenal  
**SOD** – dysmutaza ponadtlenkowa  
**GSH** – glutation (postać zredukowana)  
**GSSG** – utleniony glutation

**GP<sub>x</sub>** – peroksydaza glutationowa  
**GR** – reduktaza glutationu  
**NADP<sup>+</sup>** – fosforan dwunukleotydu nikotynamido-adeninowego  
**NADPH** – zredukowany fosforan dwunukleotydu nikotynamido-adeninowego

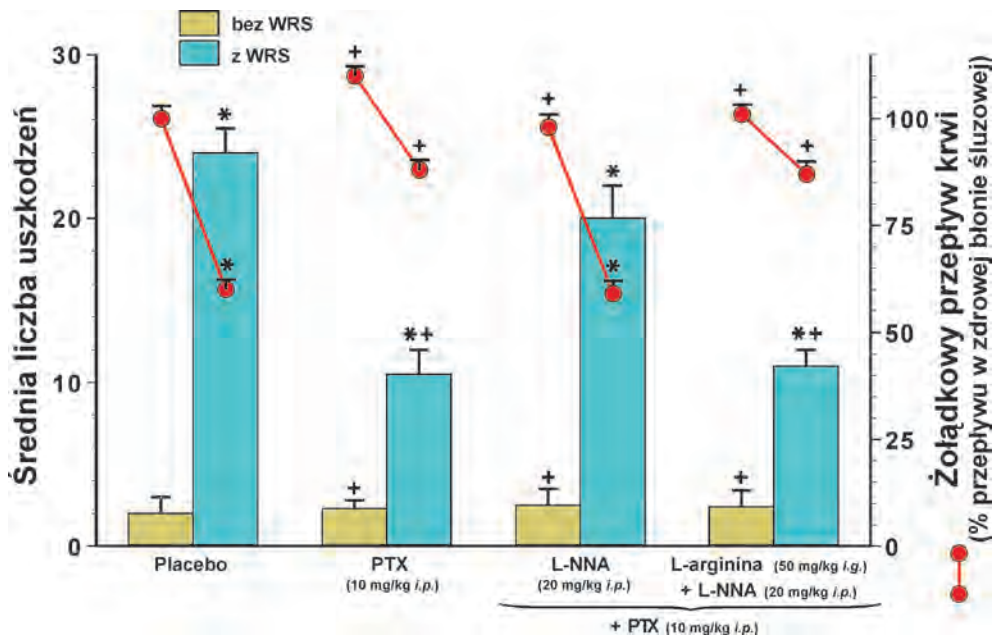
Ryc. 2. Udział produktów peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE), dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i zredukowanego glutationu (GSH) w przemianach reaktywnych form tlenu



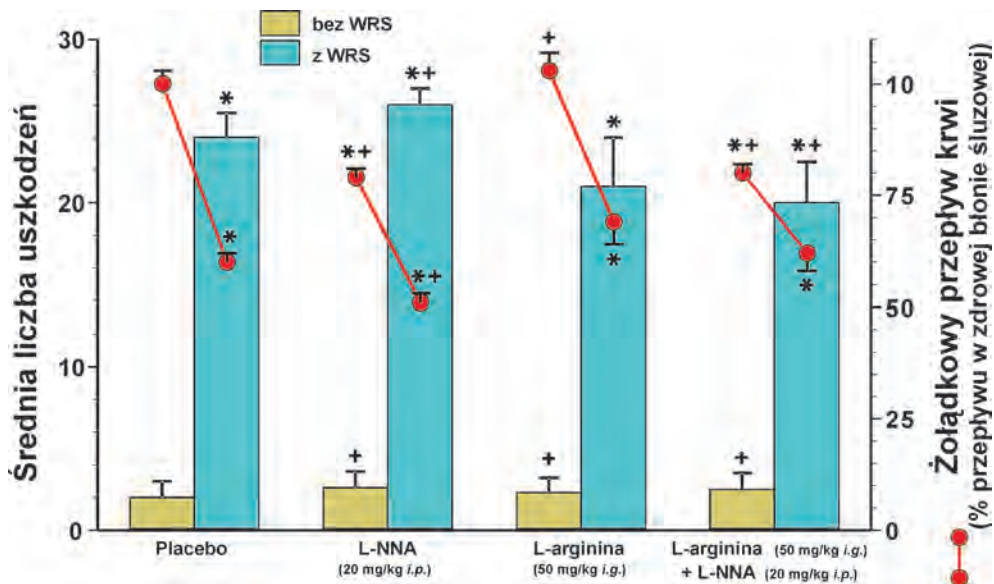
Ryc. 3. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po prawej stronie) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo SIN-1 (5 mg/kg) bądź SNAP (5 mg/kg) lub nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg). Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znaczne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



Ryc. 4. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po prawej stronie) po 3,5-godzinny stres wodny w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź NO-aspiryny (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg *i.g.*) i aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie istotne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

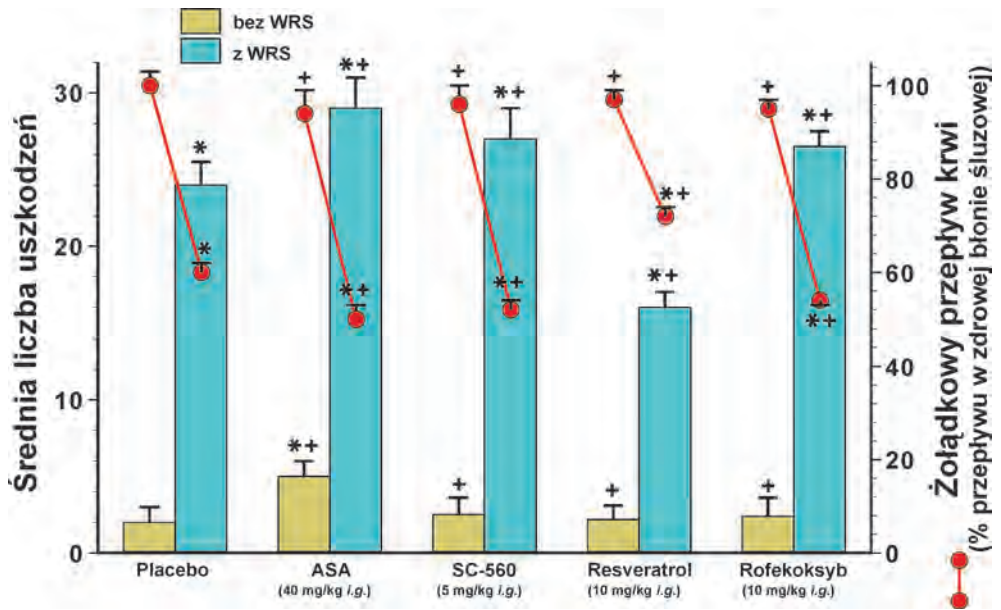


Ryc. 5. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po stronie prawej) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) bądź kombinacji L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) albo zestawu dożołądkowo zaaplikowanej L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) z L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfilią (PTX 10 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępach 30-minutowych. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

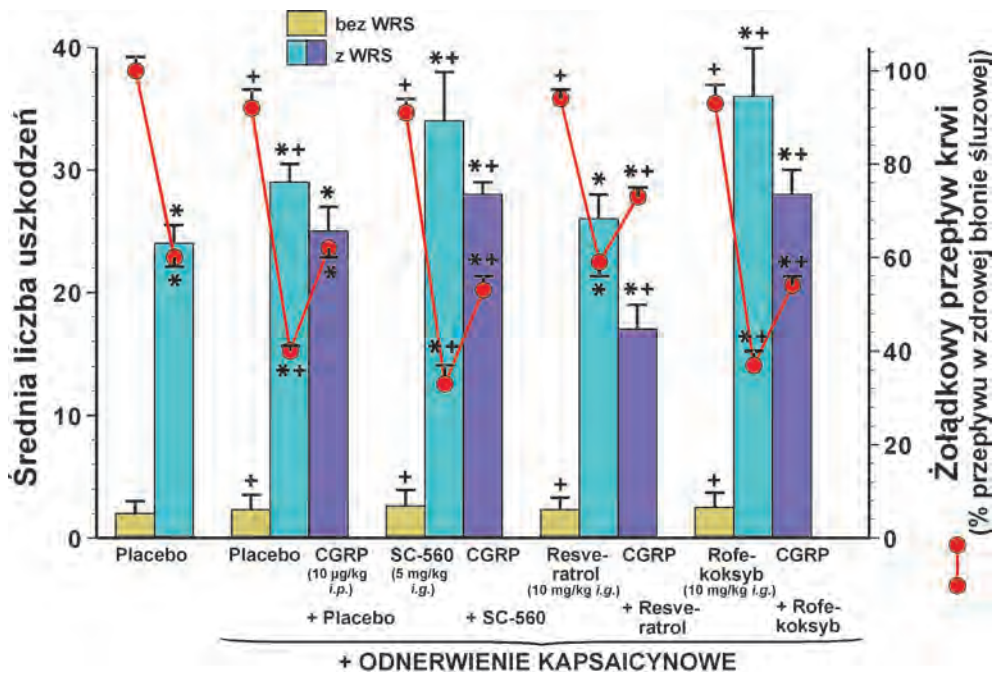


Ryc. 6. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po stronie prawej) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) bądź dożołądkowym (*i.g.*) podaniu L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji L-arginina (50 mg/kg *i.g.*) + L-NNA (20 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

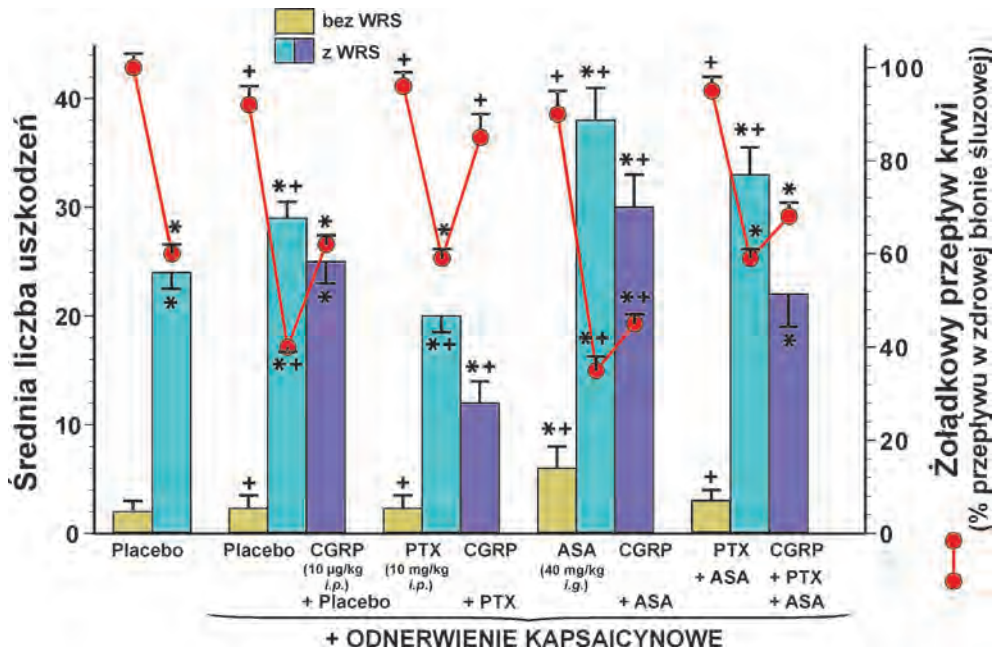




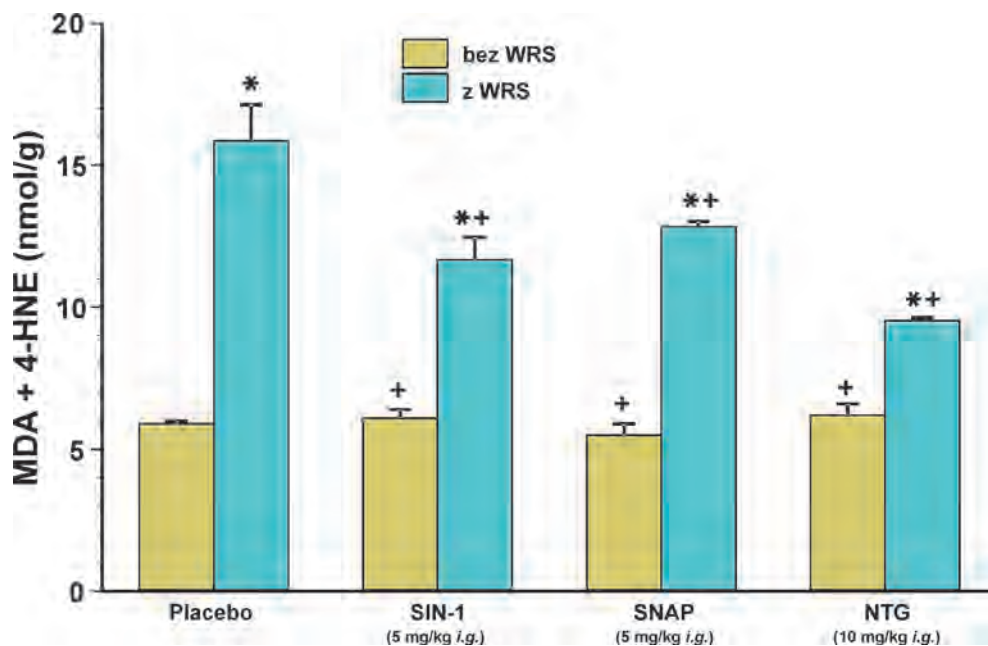
Ryc. 7. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po stronie prawej) po 3,5-godzinny stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź SC-560 (5 mg/kg *i.g.*) lub resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*) albo rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



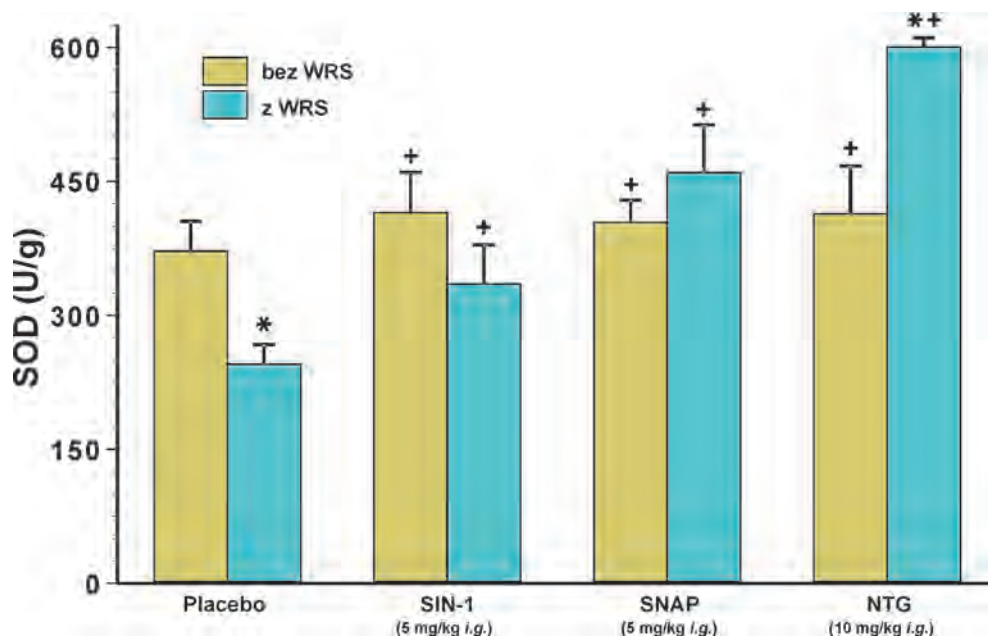
Ryc. 8. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po stronie prawej) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinnym streśnię wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl), SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksylu (10 mg/kg *i.g.*), samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdka (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą zwierząt otrzymujących placebo bez WRS, u których nie dokonano odnerwienia kapsaicynowego. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS bez odnerwienia kapsaicynowego



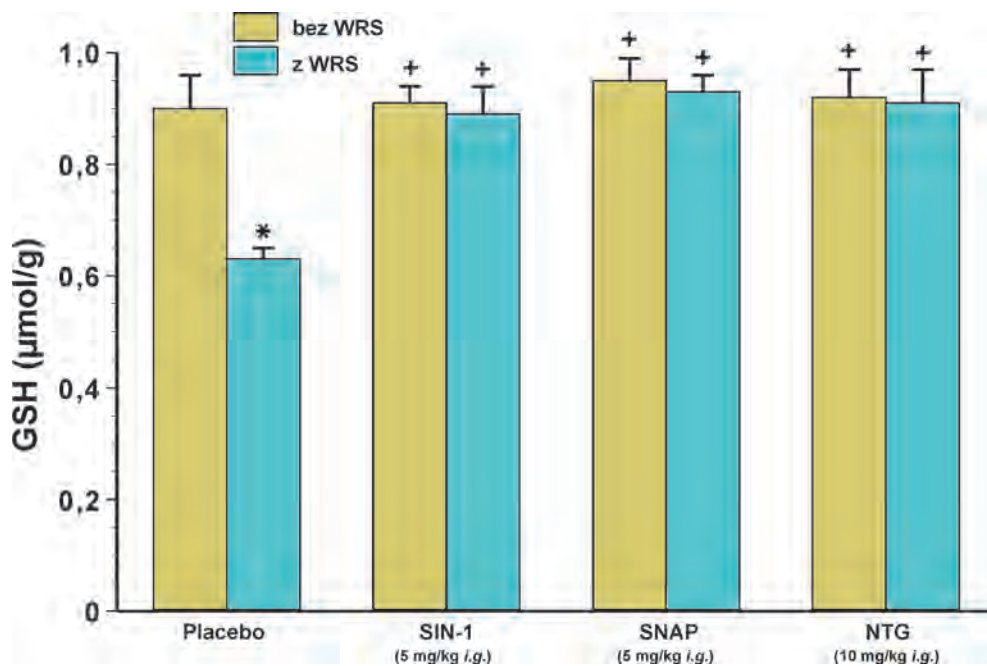
Ryc. 9. Średnia liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka (skala po lewej stronie) oraz żołądkowy przepływ krwi (skala po stronie prawej) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) pentoksyliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) albo dożołądkowym (*i.g.*) zaaplikowaniu aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź obu tych preparatów (PTX + ASA) samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany średniej liczby uszkodzeń i żołądkowego przepływu krwi w porównaniu z grupą zwierząt otrzymujących placebo bez WRS, u których nie dokonano odnerwienia kapsaicynowego. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie istotne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS bez odnerwienia kapsaicynowego



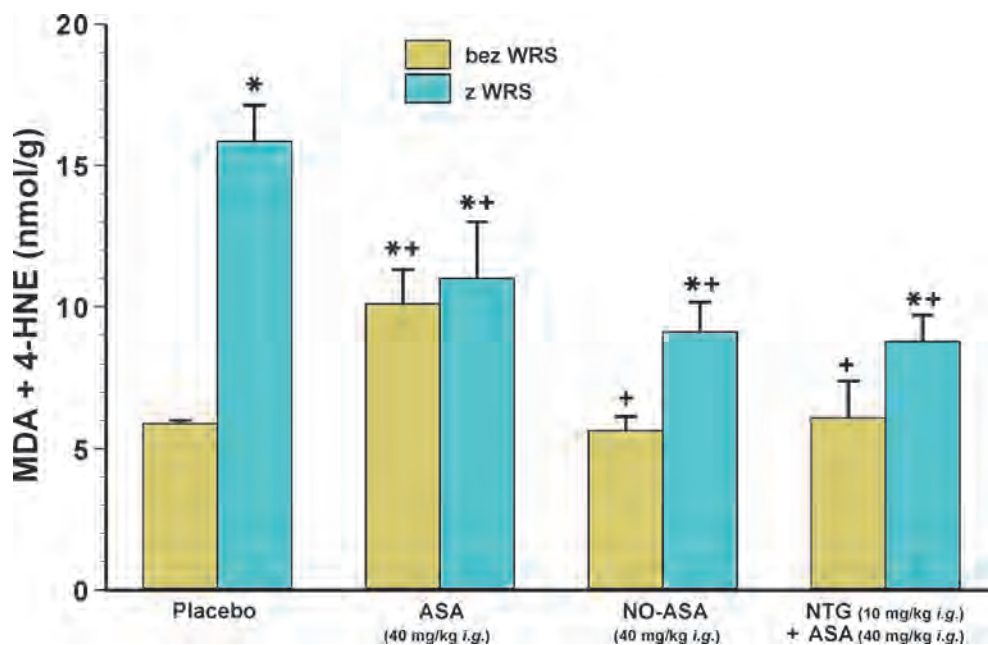
Ryc. 10. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo SIN-1 (5 mg/kg) bądź SNAP (5 mg/kg) lub nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie istotne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



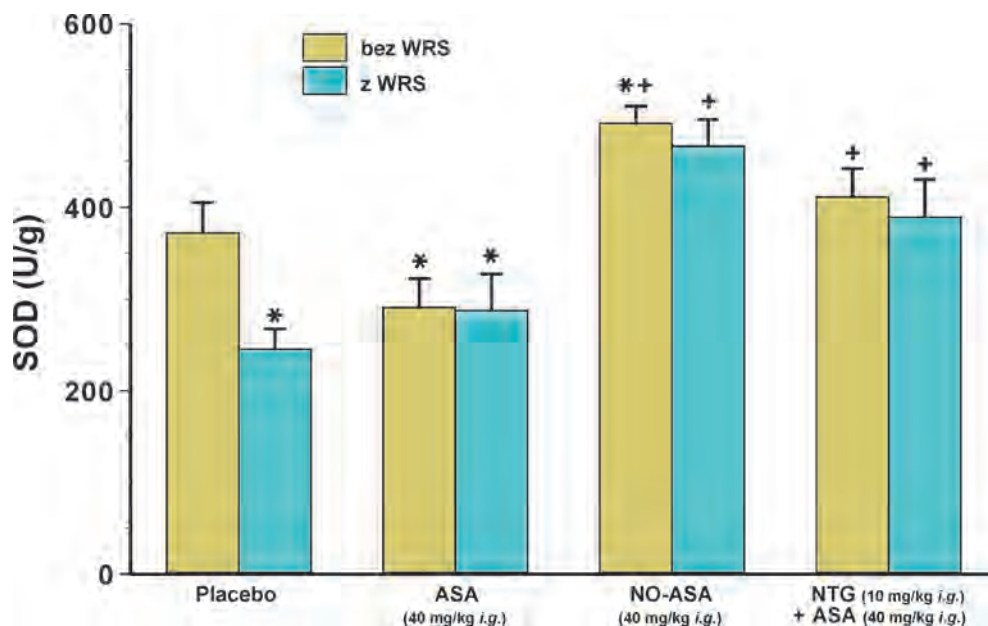
Ryc. 11. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo SIN-1 (5 mg/kg) bądź SNAP (5 mg/kg) lub nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg). Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



Ryc. 12. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka ( $\mu\text{mol/g}$  tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze  $20^{\circ}\text{C}$  (WRS) lub bez WRS po uprzednim podaniu do-żołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) lub SIN-1 (5 mg/kg) albo SNAP (5 mg/kg) bądź nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg). Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

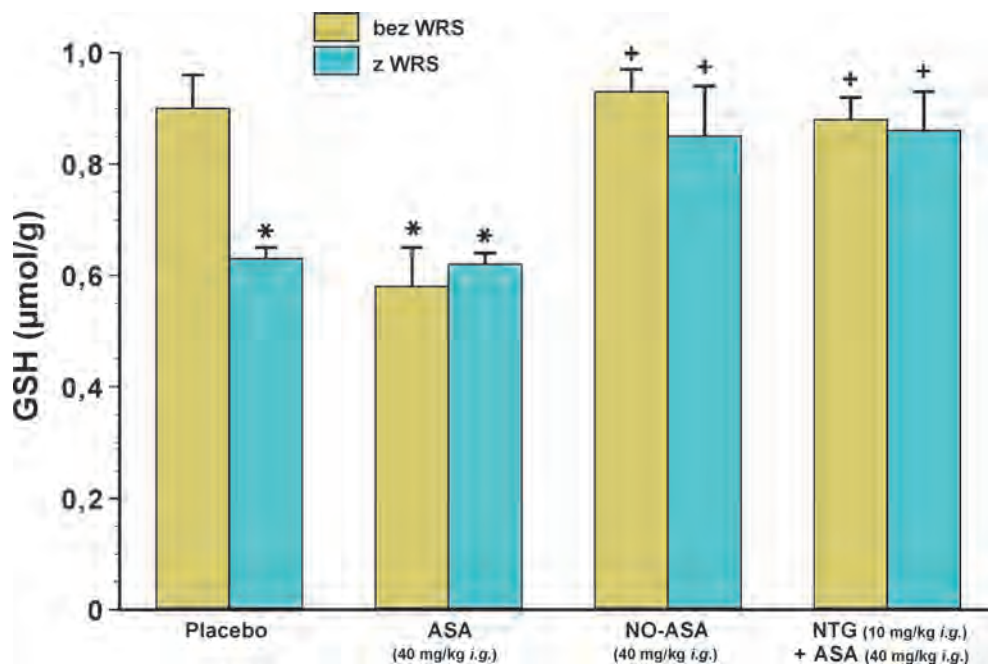


Ryc. 13. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź NO-aspiryny (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg *i.g.*) i aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

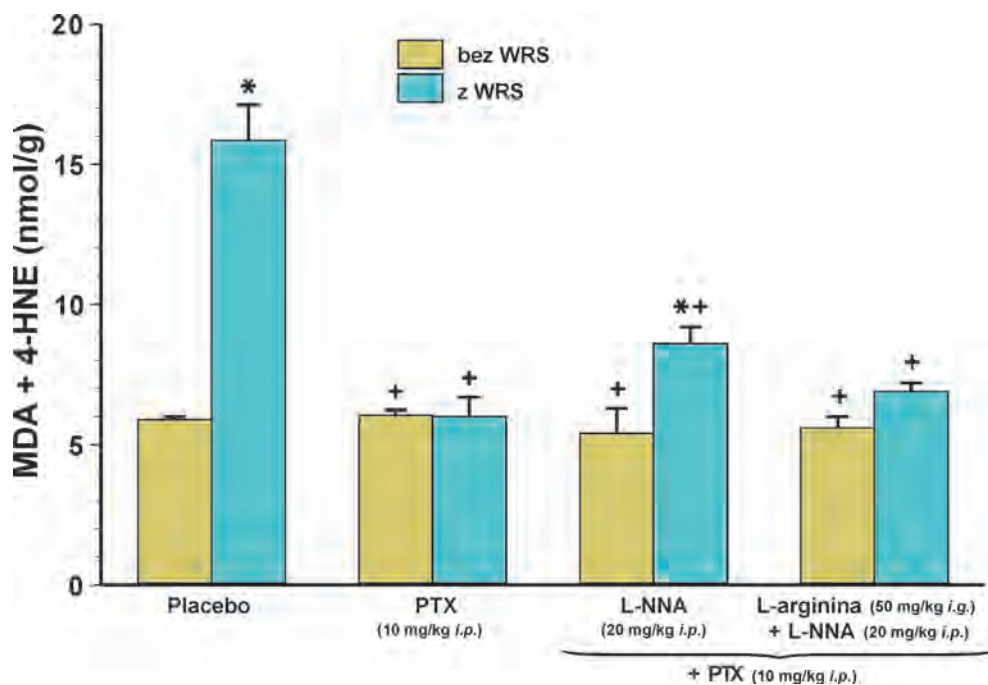


Ryc. 14. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) lub aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) albo NO-aspiryny (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź kombinacji nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg *i.g.*) i aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

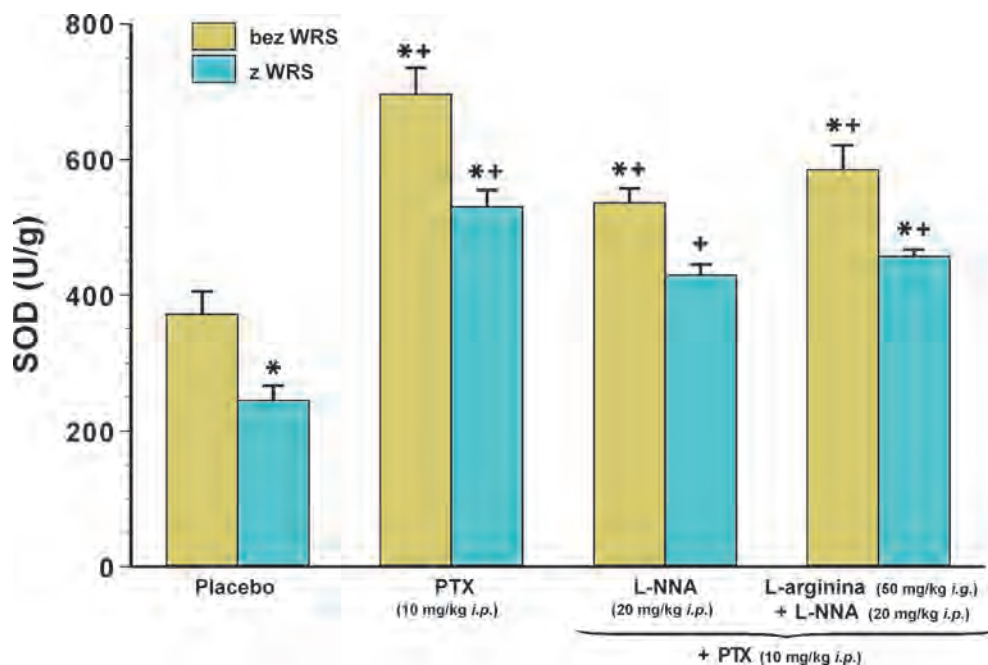




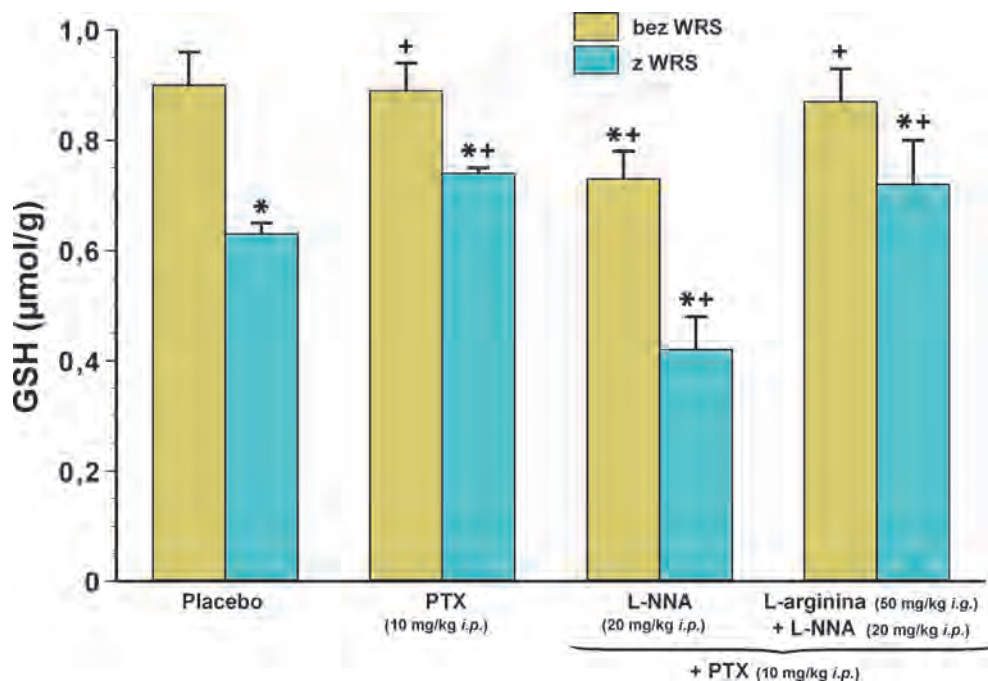
Ryc. 15. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka ( $\mu\text{mol/g}$  tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze  $20^{\circ}\text{C}$  (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź NO-aspiryny (NO-ASA 40 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji nitrogliceryny (NTG 10 mg/kg *i.g.*) i aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie istotne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



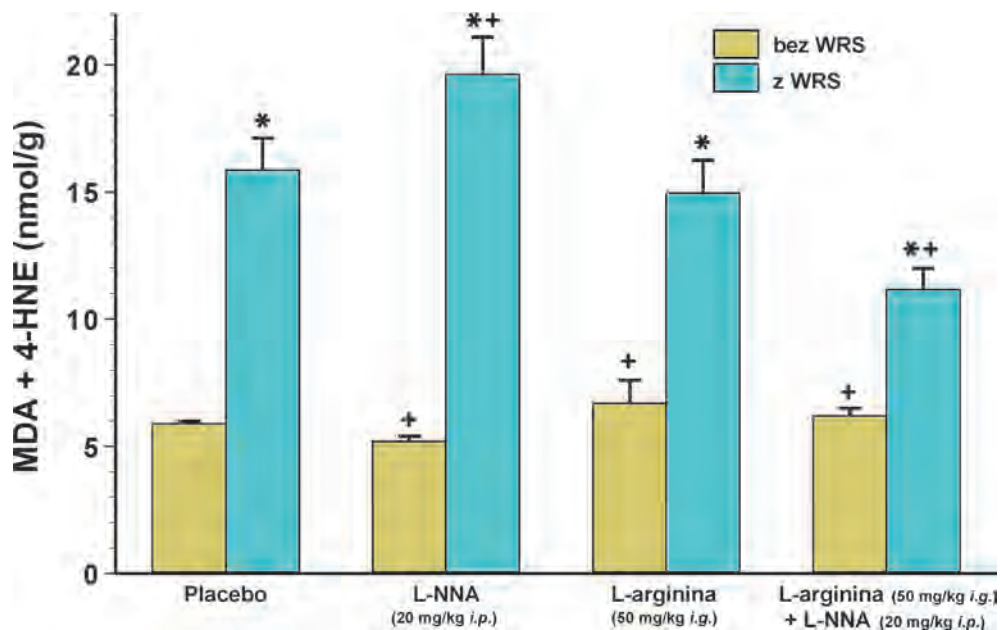
Ryc. 16. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po poprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) bądź kombinacji L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) lub zestawu dożołądkowo zaaplikowanej L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) z L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępach 30-minutowych. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znaczne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



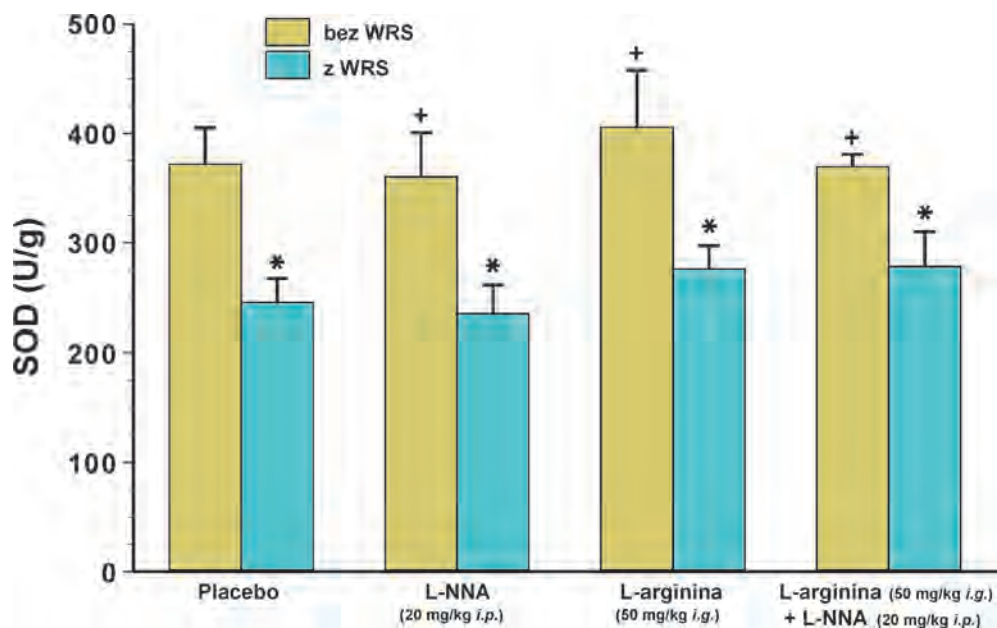
Ryc. 17. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) bądź kombinacji L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) lub zestawu dożołądkowo zaaplikowanej L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) z L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępach 30-minutowych. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znaczne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



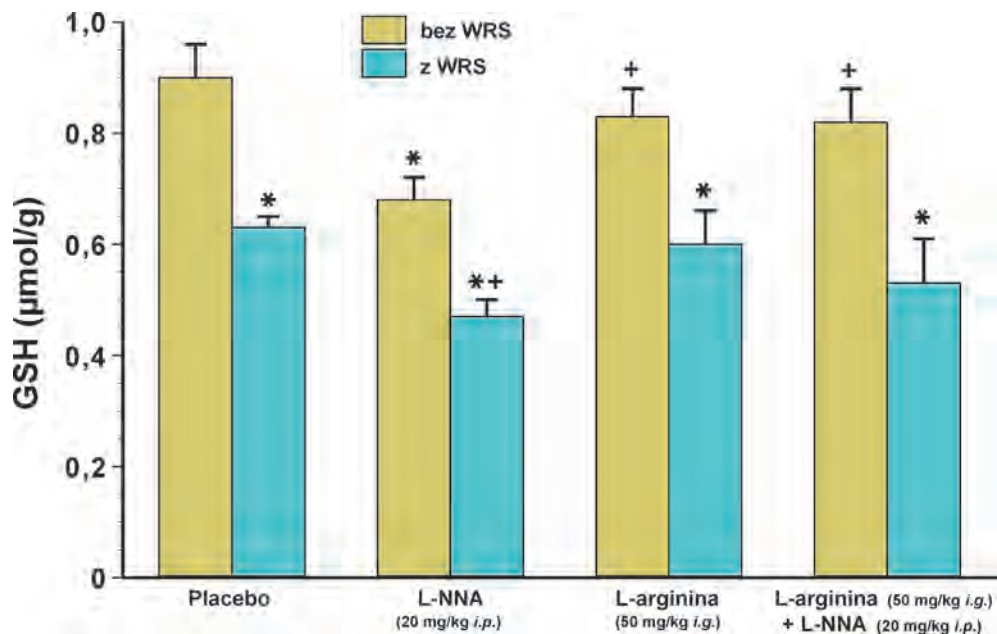
Ryc. 18. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka ( $\mu\text{mol/g}$  tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze  $20^{\circ}\text{C}$  (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu do-otrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) bądź kombinacji L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) lub zestawu dożołądkowo zaaplikowanej L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) z L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) i pentoksyfiliną (PTX 10 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępach 30-minutowych. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znaczne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



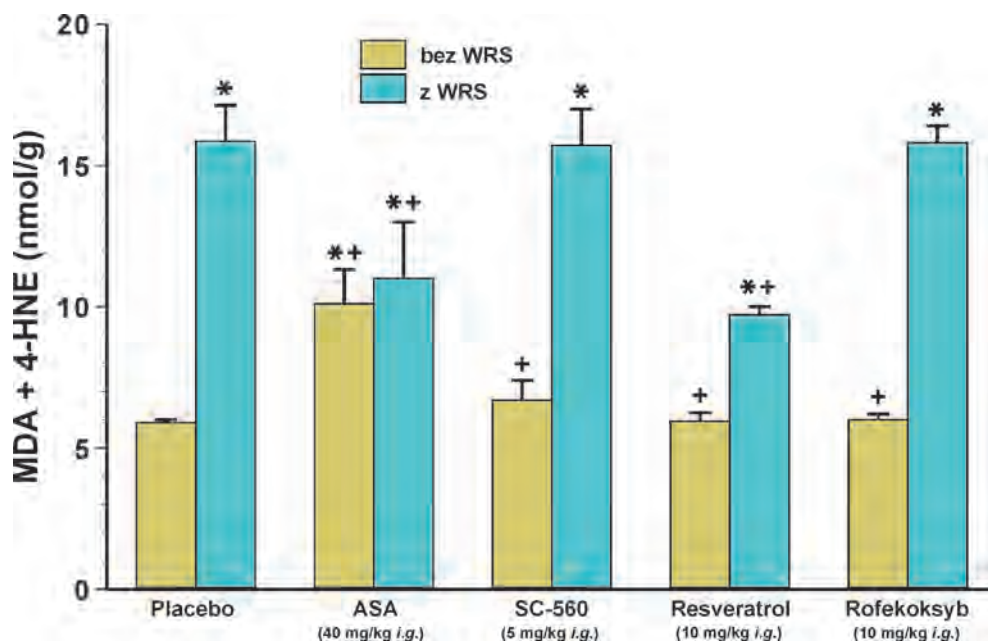
Ryc. 19. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) bądź dożołądkowym (*i.g.*) podaniu L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji L-arginina (50 mg/kg *i.g.*) + L-NNA (20 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znaczne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



Ryc. 20. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) bądź dożołądkowym (*i.g.*) podaniu L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji L-arginina (50 mg/kg *i.g.*) + L-NNA (20 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie istotne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

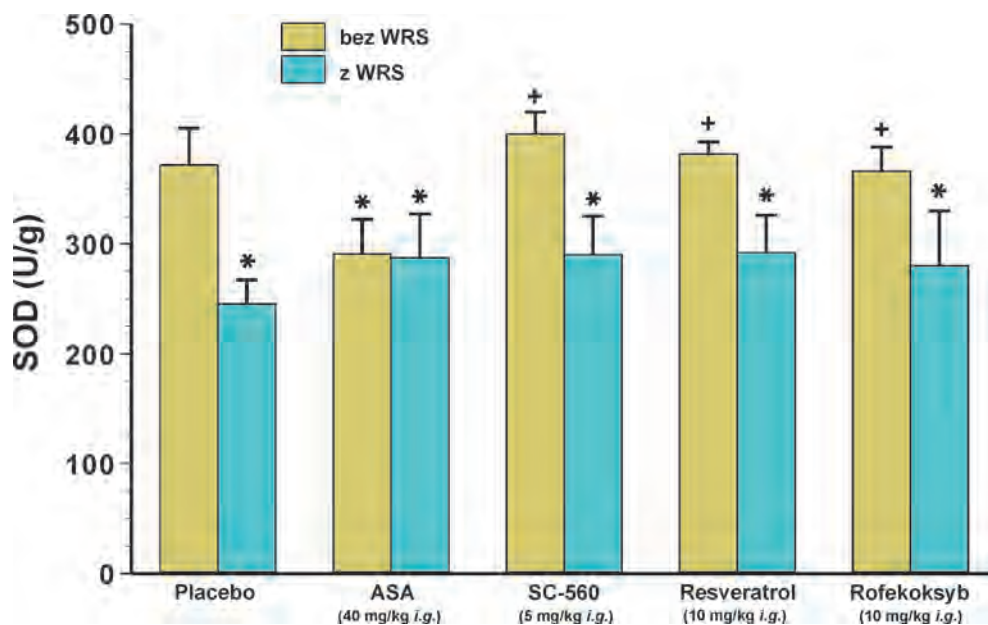


Ryc. 21. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka ( $\mu\text{mol/g}$  tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze  $20^{\circ}\text{C}$  (WRS) lub bez WRS, po przednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) placebo (0,9% NaCl) albo L-NNA (20 mg/kg *i.p.*) bądź dożołądkowym (*i.g.*) podaniu L-argininy (50 mg/kg *i.g.*) lub kombinacji L-arginina (50 mg/kg *i.g.*) + L-NNA (20 mg/kg *i.p.*), podawanych w odstępie 30-minutowym. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

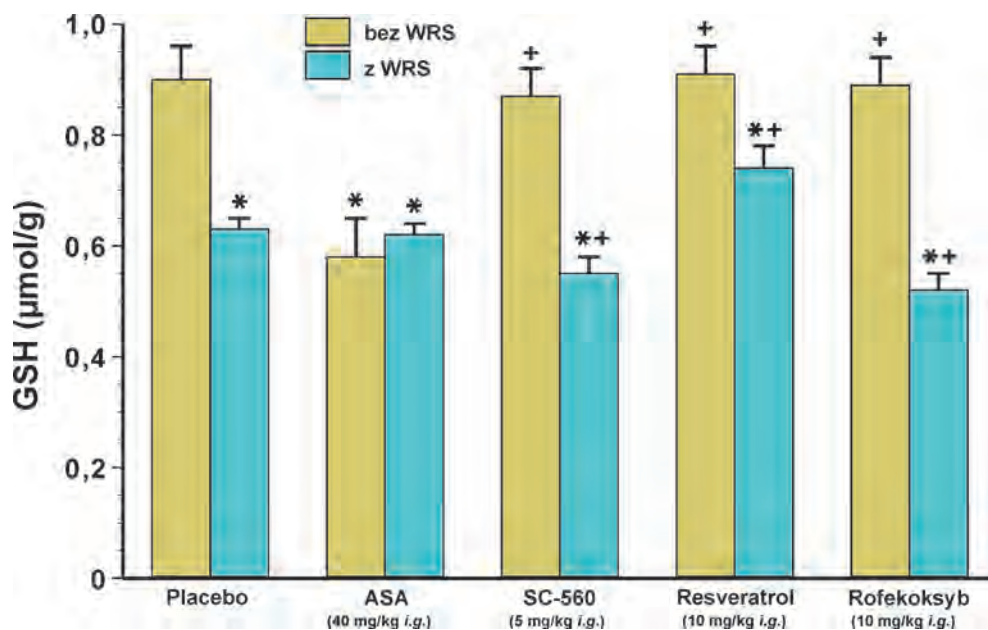


Ryc. 22. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź SC-560 (5 mg/kg *i.g.*) lub resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*) albo rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS

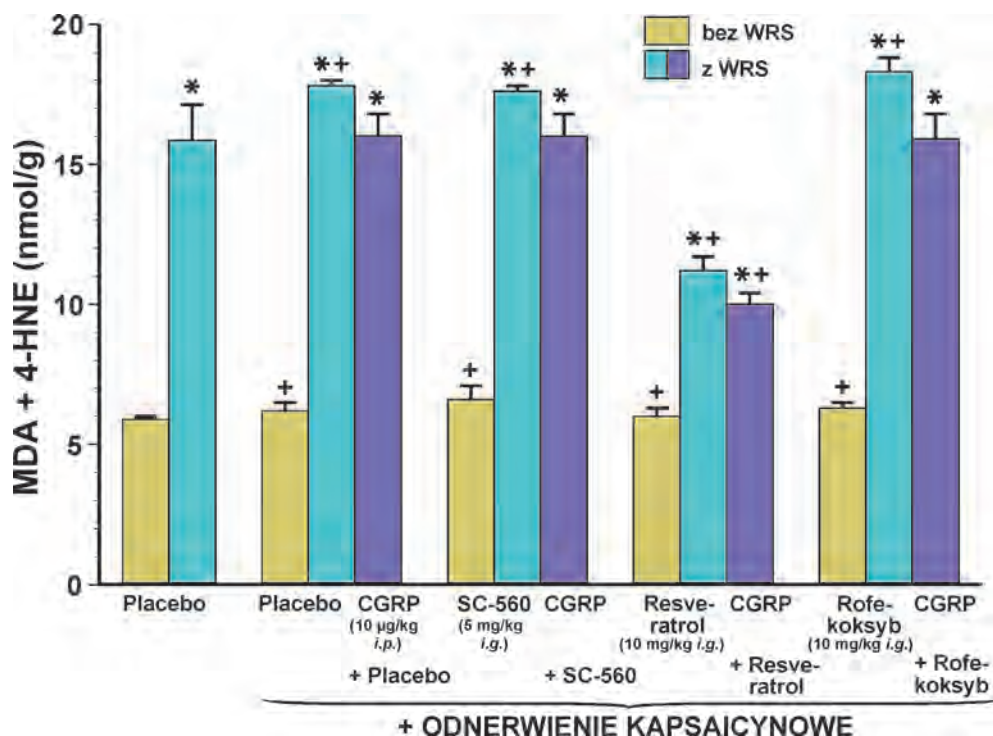




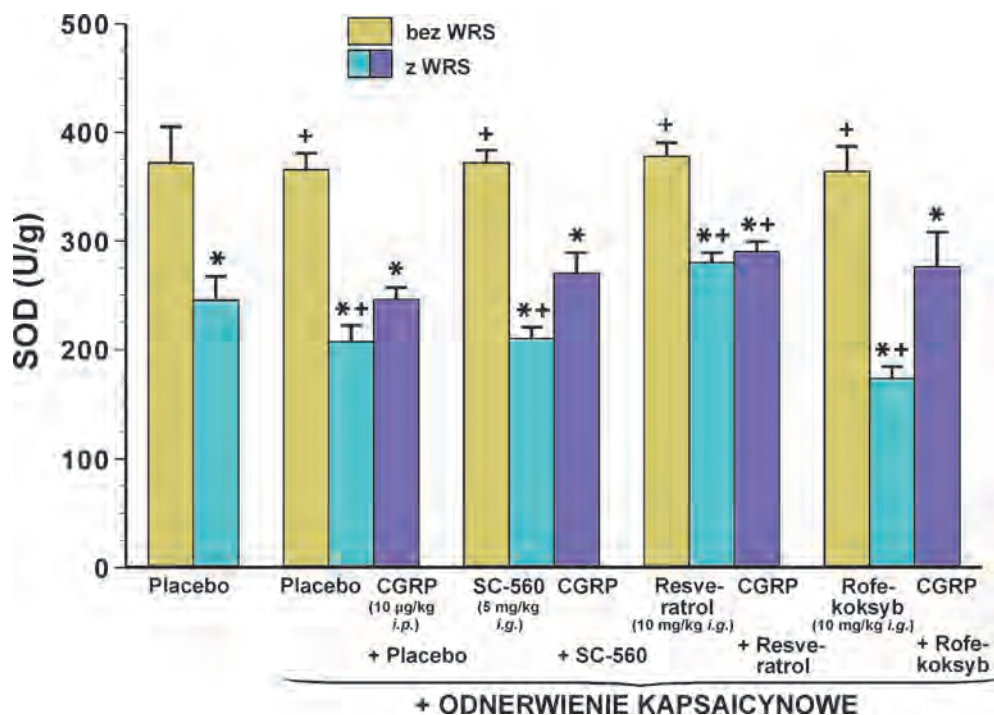
Ryc. 23. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź SC-560 (5 mg/kg *i.g.*) lub resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*) albo rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



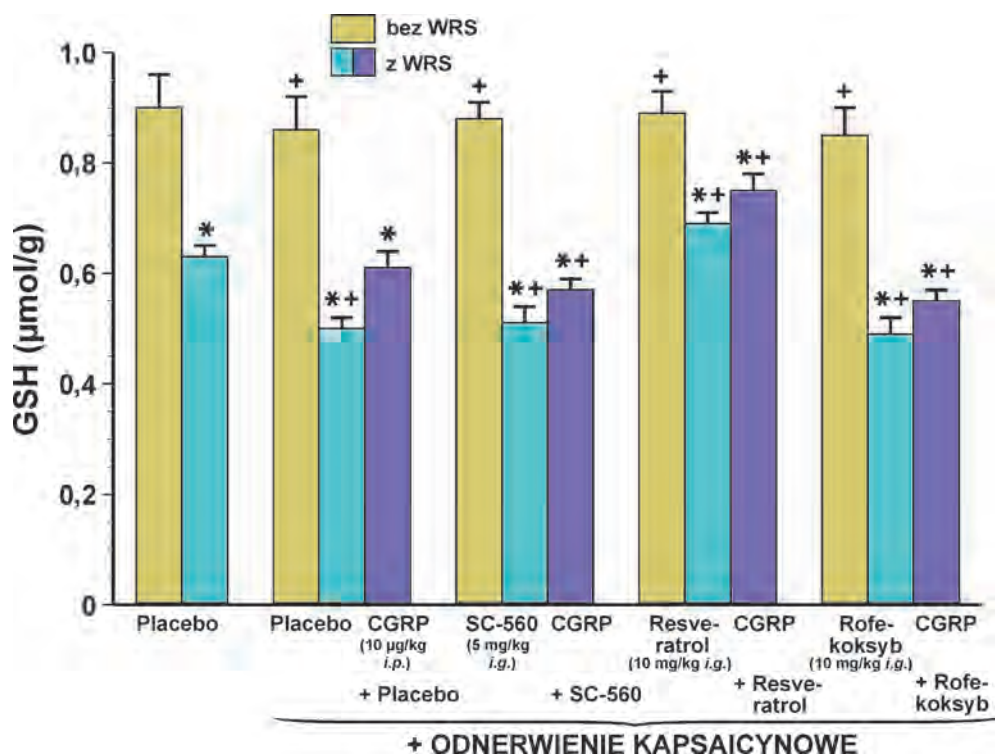
Ryc. 24. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka ( $\mu\text{mol/g}$  tkanki) po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze  $20^{\circ}\text{C}$  (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu do-żołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl) albo aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź SC-560 (5 mg/kg *i.g.*) lub resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*) albo rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*). Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znaczne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



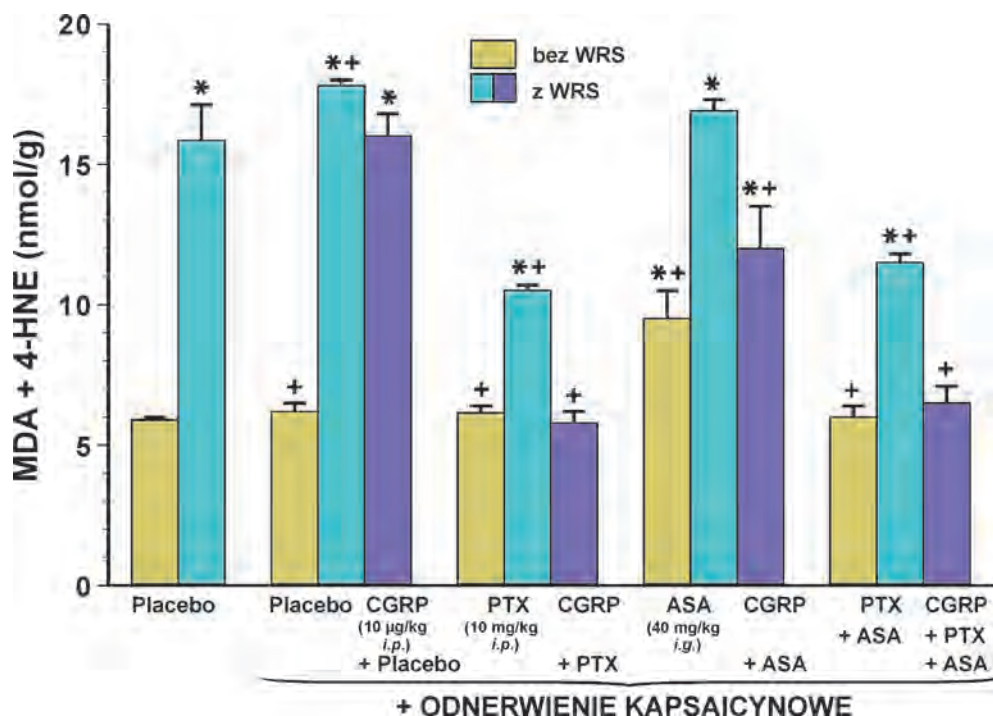
Ryc. 25. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl), SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*), samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



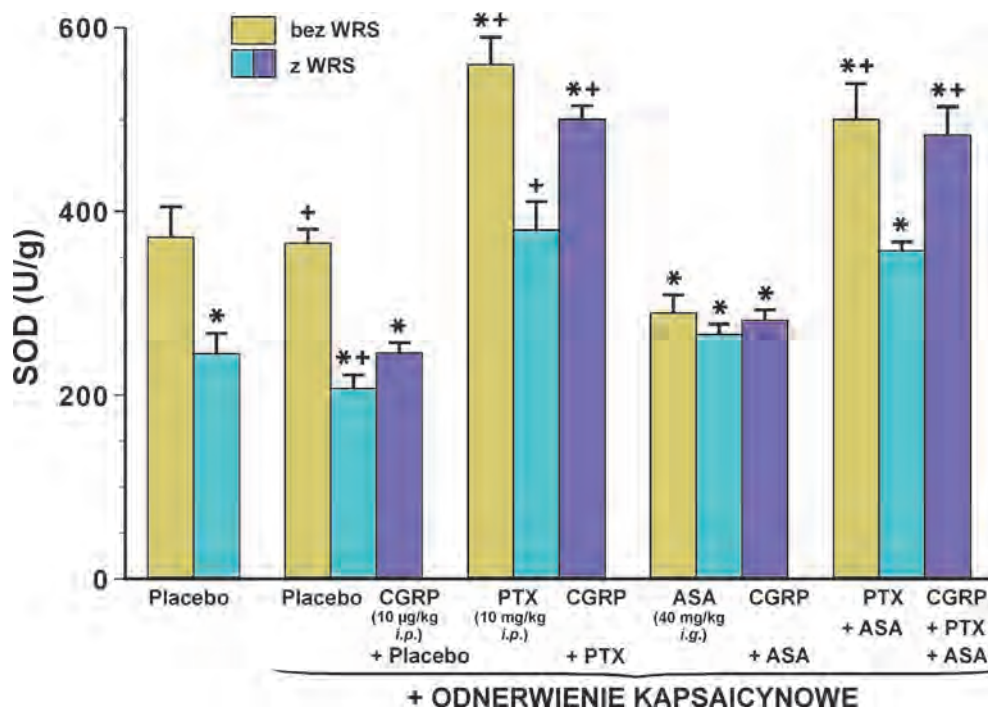
Ryc. 26. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo (0,9% NaCl), SC-560 (5 mg/kg *i.g.*), resweratrolu (10 mg/kg *i.g.*), rofekoksybu (10 mg/kg *i.g.*), samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



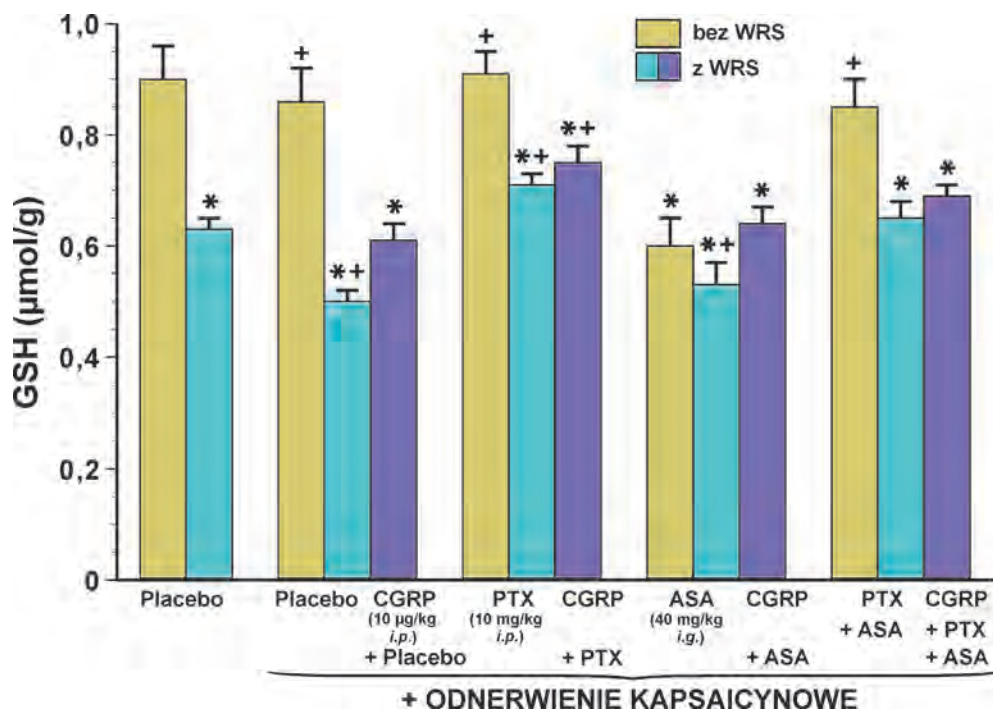
Ryc. 27. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka ( $\mu\text{mol/g}$  tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze  $20^{\circ}\text{C}$  (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dożołądkowym (*i.g.*) placebo ( $0,9\%$  NaCl), SC-560 ( $5\text{ mg/kg i.g.}$ ), resweratrolu ( $10\text{ mg/kg i.g.}$ ), rofekoksybu ( $10\text{ mg/kg i.g.}$ ), samodzielnie lub w kombinacji z CGRP ( $10\text{ }\mu\text{g/kg i.p.}$ ). Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



Ryc. 28. Stężenie malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE) w błonie śluzowej żołądka (nmol/g tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) pentoksyfili (PTX 10 mg/kg *i.p.*) albo dożołądkowym (*i.g.*) zaaplikowaniu aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź obu tych preparatów (PTX + ASA) samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



Ryc. 29. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w błonie śluzowej żołądka (U/g tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze 20°C (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) pentoksyfiliny (PTX 10 mg/kg *i.p.*) albo dożołądkowym (*i.g.*) zaaplikowaniu aspiryny (ASA 40 mg/kg *i.g.*) bądź obu tych preparatów (PTX + ASA), samodzielnie lub w kombinacji z CGRP (10 µg/kg *i.p.*). Wyniki wyrażono jako średnią ± SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie istotne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS



Ryc. 30. Stężenie zredukowanej postaci glutationu (GSH) w błonie śluzowej żołądka ( $\mu\text{mol/g}$  tkanki) u zwierząt z odnerwieniem kapsaicynowym, po 3,5-godzinnym stresie wodnym w temperaturze  $20^{\circ}\text{C}$  (WRS) lub bez WRS, po uprzednim podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) pentoksyfili (PTX  $10\text{ mg/kg i.p.}$ ) albo dożołądkowym (*i.g.*) zaaplikowaniu aspiryny (ASA  $40\text{ mg/kg i.g.}$ ) bądź obu tych preparatów (PTX + ASA) samodzielnie lub w kombinacji z CGRP ( $10\text{ }\mu\text{g/kg i.p.}$ ). Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  SEM. Gwiazdką (\*) oznaczono statystycznie istotne zmiany w porównaniu z grupą placebo bez WRS. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą placebo + WRS