

SÓL LIZYNOWA KETOPROFENU NIE WYKAZUJE DZIAŁANIA OCHRONNEGO NA ŻOŁĄDEK W PORÓWNANIU Z KETOPROFENEM U SAMIC SZCZURÓW PO ZATRUCIU ALKOHOLEM ETYLOWYM

Kinga Ruszel¹⁾, Barbara Nieradko-Iwanicka²⁾, Magdalena Naja-Wiśniewska³⁾, Paulina Wójtowicz⁴⁾

¹⁾ Szkoła Doktorska, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²⁾ Zakład Higieny i Epidemiologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³⁾ Oddział Geriatrii, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. Stefana Kardynała Wyszyńskiego, Lublin

⁴⁾ Oddział Chorób Wewnętrznych, Endokrynologii i Diabetologii, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. Stefana Kardynała Wyszyńskiego, Lublin

STRESZCZENIE

Sól lizynowa ketoprofenu – nowy niesteroidowy lek przeciwzapalny (NLPZ) to udoskonalona formuła ketoprofenu. Uważa się, że ten pierwszy ma właściwości chroniące żołądek, drugi uśmierza ostry ból i zwiększa ryzyko uszkodzenia błony śluzowej żołądka. W Europie Wschodniej upijanie się i przyjmowanie NLPZ następnego dnia jest powszechne. Celem pracy była weryfikacja hipotezy o ochronnym działaniu soli lizynowej ketoprofenu po ekspozycji na 50% alkohol. Doświadczenie przeprowadzono na 36 samicach szczurów rasy Wistar podzielonych na 6 grup po 6 sztuk:

1. 50% etanol

2. 0,9% NaCl

3. 0,9% NaCl i ketoprofen

4. 50% etanol i ketoprofen

5. 0,9% NaCl i sól lizynowa ketoprofenu

6. 50% etanol i sól lizynowa ketoprofenu

W dniu 7 zwierzęta uśmiercano. Ich żołądki wypreparowano do badania histopatologicznego.

W badaniu mikroskopowym żołądków z grup 1, 3, 4, 5, 6 stwierdzono nieswoiste, limfocytoowo-plazmocytowe zapalenie błony śluzowej żołądka o wysokim stopniu nasilenia.

Wnioski - Sól lizynowa ketoprofenu i ketoprofen uszkadzają błonę śluzową żołądka u samic szczurów po zatruciu alkoholem i bez niego. Sól lizynowa ketoprofenu nie ma działania ochronnego na żołądek

Słowa kluczowe: zapalenie żołądka; ketoprofen; sól lizynowa ketoprofenu; etanol.

ARTICLE INFO

PolHypRes 2023 Vol. 84 Issue 3 pp. 69 – 79

ISSN: 1734-7009 eISSN: 2084-0535

DOI: 10.2478/phr-2023-0018

Strony: 11, rysunki: 6, tabele: 0

page **www of the periodical:** www.phr.net.pl

Publisher

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

Typ artykułu: przeglądowy

Termin nadestania: 12.03.2023 r.

Termin zatwierdzenia do druku: 20.04.2023 r.

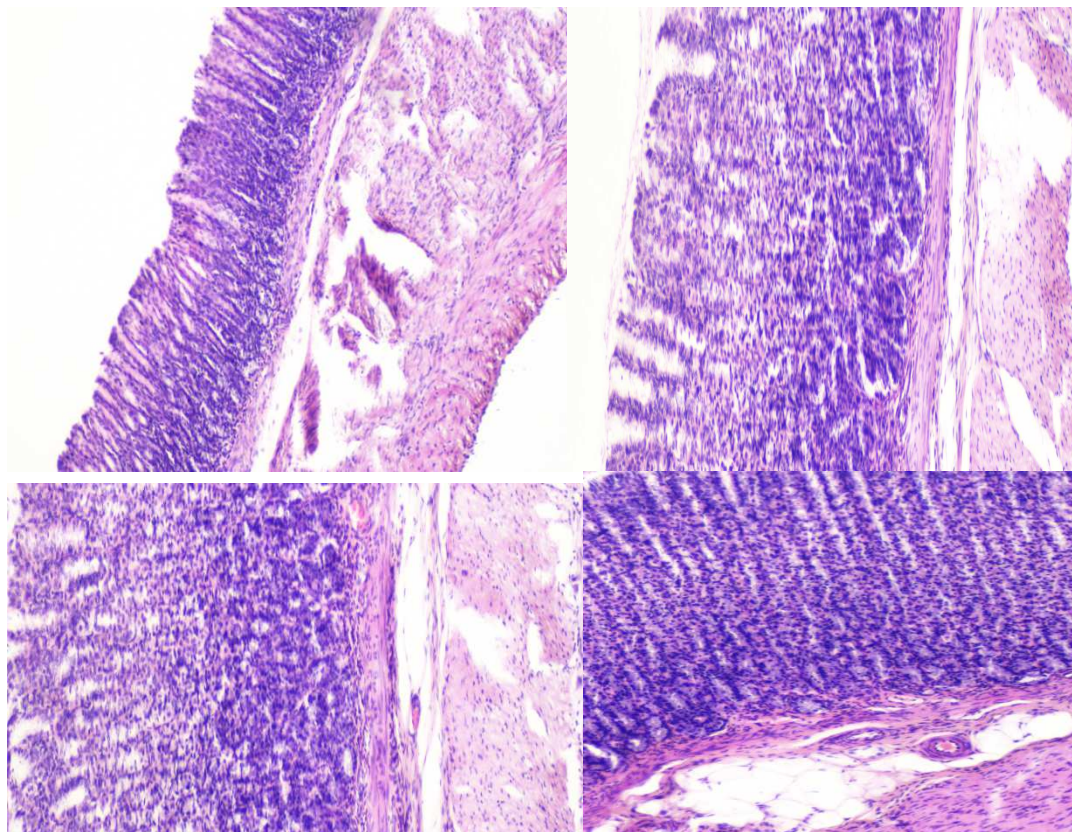


WSTĘP

Ketoprofen działa hamująco na cyklooksygenazę-1 (COX-1) i COX-2, co warunkuje jego dobrze znane działanie przeciwzapalne i zwiększa ryzyko uszkodzenia błony śluzowej żołądka [1].

Sól lizynowa ketoprofenu to nowy niesteroidowy lek przeciwzapalny (NLPZ), będący konkurencją dla ketoprofenu na rynku. Jest to sól w przeciwieństwie do zdecydowanej większości NLPZ, które są słabymi kwasami. Dzięki dołączeniu do cząsteczki L-lizyny nowy produkt charakteryzuje się zwiększoną rozpuszczalnością i szybszym wchłanianiem w żołądku w porównaniu z ketoprofenem [2]. Cimini i wsp. przeprowadzili eksperyment na linii komórek nabłonka ludzkiego żołądka uszkodzonej etanolem wystawionym na działanie soli lizyny ketoprofenu. Ich wyniki sugerowały ochronne działanie tego produktu na żołądek [3]. Jednak w badaniu przeprowadzonym na Uniwersytecie Medycznym w Lublinie wykazano na modelu samca szczura, że sól lizynowa ketoprofenu nie wykazuje właściwości ochronnych dla żołądka [4]. W cytowanym badaniu autorzy wybrali samce, gdyż u ludzi nadużywanie alkoholu częściej odnotowuje się u mężczyzn.

Dane dotyczące spożycia alkoholu w Polsce wskazują, że w 2021 r. spożycie ogółem wyniosło (w litrach czystego alkoholu na osobę) 9,70 l/osobę. Istnieją wyliczenia wskazujące, że alkohole mocne stanowiły 39,2% spożycia w 2021 r., natomiast piwo 52,5% [5]. Upijanie się i ryzykowne picie częściej występuje u mężczyzn niż u kobiet. Jednak toksyczne działanie etanolu u kobiet rozwija się łatwiej niż u mężczyzn, ponieważ mają one niższą aktywność dehydrogenazy alkoholowej i mniejszą objętość dystrybucji niż mężczyźni, ponieważ kobiety mają więcej tkanki tłuszczowej i mniej mięśni niż mężczyźni. Eksperti ds. zdrowia publicznego zalecają, aby nie pić alkoholu, a jeśli już, to pić go z umiarem. Oznacza to nie więcej niż jeden ekwiwalent alkoholu dziennie dla kobiety niebędącej w ciąży i nie więcej niż dwa ekwiwalenty alkoholu dziennie dla mężczyzny [6]. Alkohol jest uzależniająca neurotoksyną. Powoduje depresję ośrodkowego układu nerwowego. Jest spożywany na całym świecie, zwłaszcza w Europie. Zalecenia dotyczące spożycia alkoholu są kontrowersyjne. Eksperti ds. zdrowia publicznego opowiadają się za umiarkowanym spożyciem, ponieważ ma ono korzystny wpływ na układ sercowo-naczyniowy i zmniejsza ryzyko śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny. Jednocześnie istnieją dowody na to, że spożywanie alkoholu wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na nowotwory, choroby neurologiczne czy urazy [7,8,9]



Rys. 1 Wyniki badania histopatologicznego grupy 1 (po zatruciu etanolem).

CEL

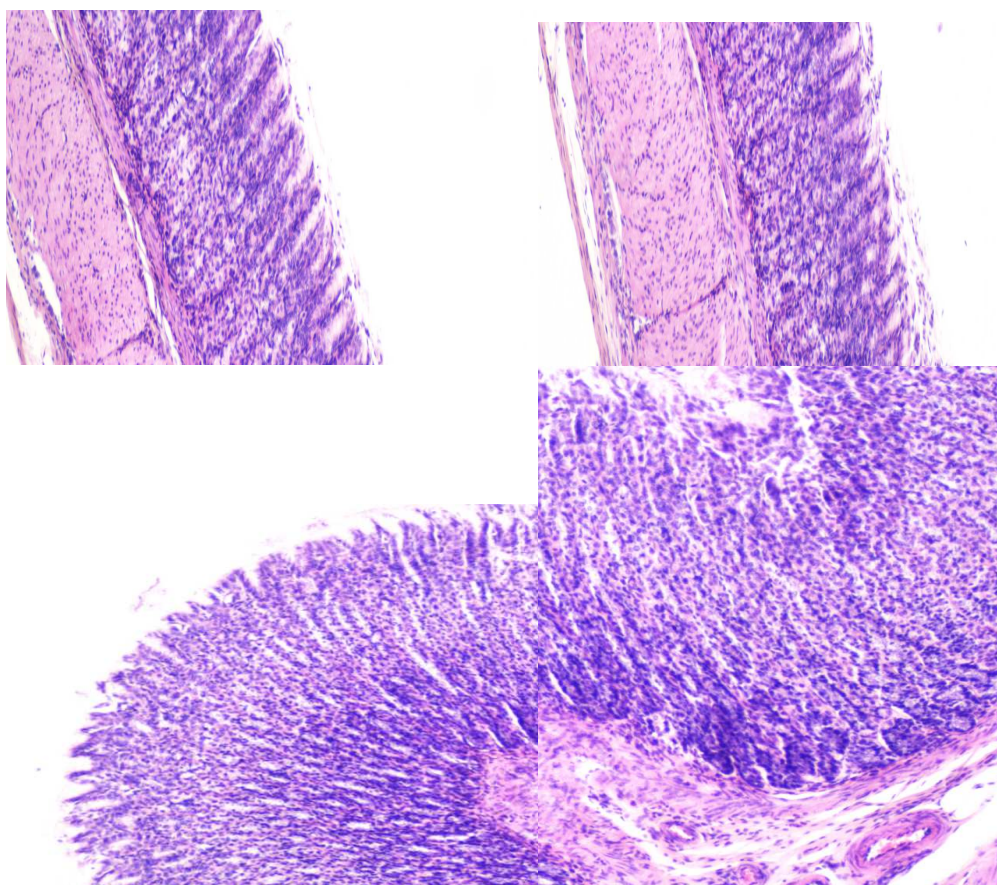
Celem pracy była weryfikacja hipotezy o ochronnym działaniu soli lizynowej ketoprofenu na błonę śluzową żołądka po ekspozycji na 50% alkohol.

MATERIAŁY I METODY

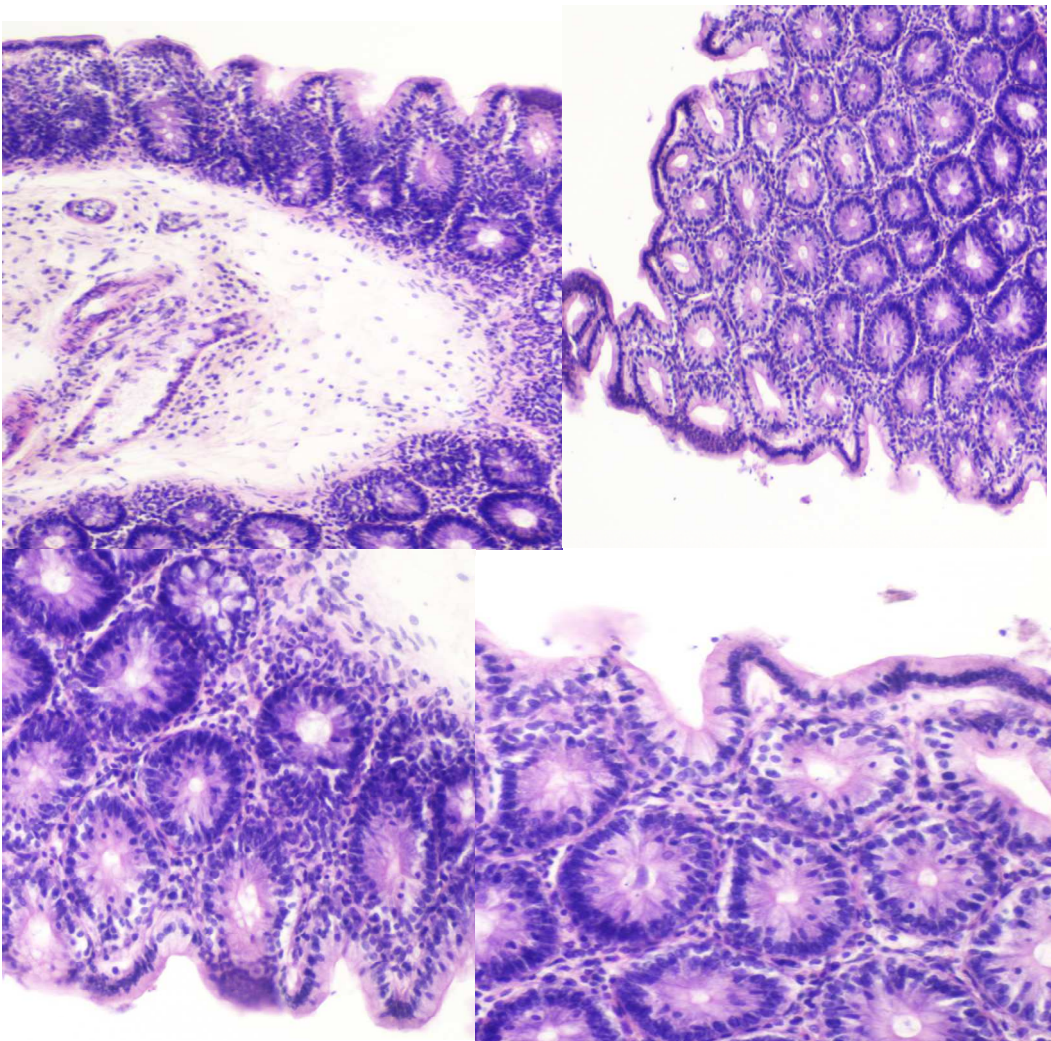
Badanymi produktami były ketoprofen i sól lizynowa ketoprofenu. Ketoprofen stosowano w postaci roztworu Ketonalu do wstrzykiwań w ampułkach 50ml/ml (Sandoz GmbH, Wien, Austria). Sól lizynową ketoprofenu stosowano jako KETONAL SPRINT dostępny w postaci granulek (Sandoz GmbH, Wien, Austria). Do przygotowania roztworu soli lizynowej ketoprofenu użyto 0,9% NaCl (B. Braun, Melsungen AG, Hessen, Niemcy). Alkohol etylowy zakupiono od firmy Polmos (Lublin) jako Spirytus 95%. 50% roztwór etanolu przygotowano z solą fizjologiczną. Dawki badanych produktów zostały dobrane na podstawie wcześniejszych doświadczeń przeprowadzonych w naszym Zakładzie [4]. Dawka alkoholu miała na celu stworzenie zwierzęcego modelu upijania się u dorosłego człowieka. Ten styl picia jest powszechny w Europie Wschodniej. Następnego dnia większość użytkowników cierpi na kaca i bóle głowy. Stosowane w naszym eksperymencie dawki ketoprofenu i soli lizynowej ketoprofenu odpowiadają zalecanym dawkom przeciwbólowym tych leków.

Doświadczenie przeprowadzono na 36 losowo wybranych samicach szczurów rasy Wistar, których masa ciała przed rozpoczęciem doświadczenia wynosiła 190-205g. Zwierzęta hodowano w Ośrodku Medycyny Doświadczalnej (OMD) Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Pierwotnym źródłem stada było laboratorium Charles River (Kolonja, Niemcy). Miały 7 tygodni. Eksperyment przeprowadzono zgodnie z przepisami prawa europejskiego w OMD. W OMD panowały standardowe warunki laboratoryjne: temperatura 21-22°C, 12-godzinny cykl światło/ciemność i wilgotność względna powietrza 55-60%. Zwierzęta miały swobodny dostęp do sterylnej wody (sterylizowanej promieniami ultrafioletowymi) i paszy dla gryzoni zakupionej od Altromin International (Lage, Niemcy). Badane produkty podawano przez zgłębnik żołądkowy. Zwierzęta podzielono na 6 grup po 6 w każdej:

1. 50% etanol (5 ml/kg m.c. pierwszego dnia),
2. 0,9% NaCl (5 ml/kg m.c. pierwszego dnia),
3. 0,9% NaCl (5ml/kg m.c. w 1. dniu) i ketoprofen (8mg/kg m.c. w 2.-6. dniu),
4. 50% etanol (5ml/kg m.c. w 1. dniu) i ketoprofen (8mg/kg m.c. w 2.-6. dniu),
5. 0,9% NaCl (5 ml/kg m.c. w 1. dniu) i sól lizynowa ketoprofenu (12,8 mg/kg m.c. w 2.-6. dniu),
6. 50% etanol (5 ml/kg m.c. w 1. dniu) i sól lizynowa (12,8 mg/kg m.c. w 2.-6. dniu).



Rys. 2 Wyniki badania histopatologicznego grupy 2 (podano 0,9% NaCl).



Rys. 3 Wyniki badania histopatologicznego grupy 3 (leczonej ketoprofenem).

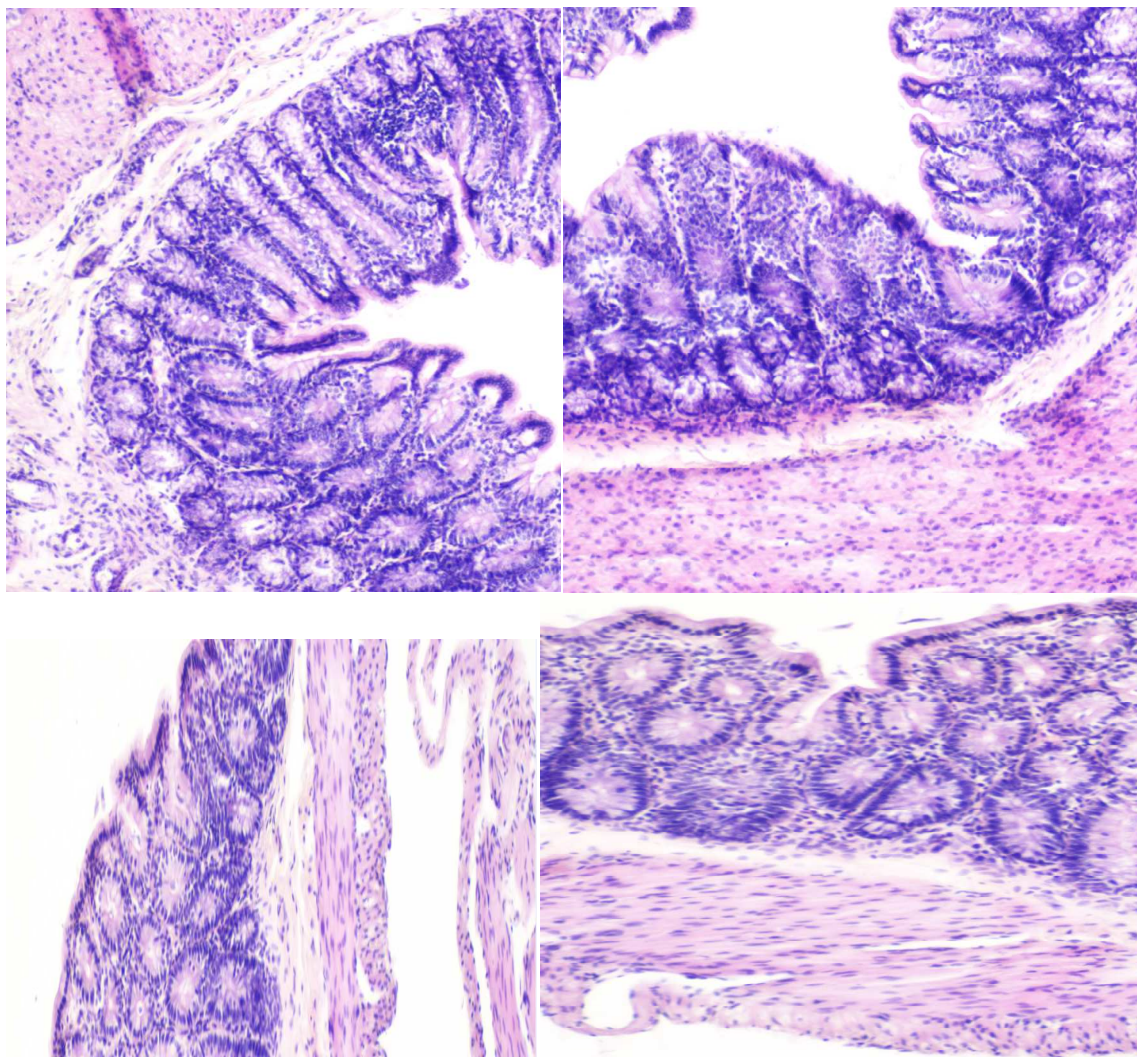
W dniu 7 wszystkie zwierzęta zostały zdekapitowane przy użyciu giloty. Aby zapobiec możliwym interakcjom, nie stosowaliśmy żadnego środka znieczulającego. Wypreparowano żołądki. Materiał tkankowy utrwalano przez 24 godziny w 10% formalinie o pH 7,2, a następnie w ciągu 24 godzin żołądki przenoszono poprzez wzrastające stężenia roztworów alkoholu, acetonu i ksylenu do bloków parafinowych w procesorze tkankowym. Skrawki tkanki o grubości 4 μm wykonano na mikrotomie i umieszczono na szkiełkach szkiełkowych. Po wybarwieniu hematoxyliną i eozyną (HE) przeprowadzono ocenę histopatologiczną preparatów pod mikroskopem świetlnym (Nikon ECLIPSE Ci-L, Tokio, Japonia) przy powiększeniu obiektywu 10x i 20x. Do oceny uszkodzenia błony śluzowej żołądka wykorzystano skalę Li [10]. Uszkodzenia błony śluzowej żołądka zostały sklasyfikowane w następujący sposób:

- 0 - normalna błona śluzowa,
- 1 - obrzęk i/lub wakuolizacja, ale minimalne zmiany w architekturze krypt,
- 2 - uszkodzenie nabłonka,
- 3- nadżerka sięgająca do błony śluzowej mięśni.

Ze względu na ograniczone finanse nie wykonano badania immunochemicznego.

Dane analizowano przy użyciu oprogramowania IBM SPSS Statistics v.25. Porównań pomiędzy analizowanymi grupami dokonano za pomocą testu Kruskala-Wallisa. W przypadku wykrycia różnic istotnych statystycznie przeprowadzono analizę post hoc za pomocą testu Dunna (w celu wskazania grup istotnie statystycznie różniących się: grupa badana vs grupa kontrolna). Poziom istotności wynosił $p < 0,05$.

Projekt uzyskał akceptację Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Lublinie (70/2021 wydany 8.11.2021).



Rys. 4 Wyniki badania histopatologicznego grupy 4 (leczenie ketoprofenem po zatruciu etanolem).

WYNIKI

W ocenie makroskopowej u wszystkich zwierząt z grupy 1,3,4,5,6 stwierdzono zaczerwienienie błony śluzowej żołądka. W badaniu makro i mikroskopowym żołądków grupy 2 stwierdzono prawidłową budowę błony śluzowej żołądka, bez wyraźnych zmian patologicznych i bez cech stanu zapalnego. Wynik zmian równy 0 (Ryc. 1,2,3,4,5,6).

W badaniu mikroskopowym żołądków z grup 1,3,4,5,6 stwierdzono znaczne ściężczenie błony śluzowej żołądka. W obrębie błony śluzowej żołądka, pomiędzy skupiskami tkanki gruczołowej gruczołów ściany żołądka widoczne są liczne nacieki komórek zapalnych, składające się głównie z limfocytów i komórek plazmatycznych. Opisane nacieki zapalne pokrywają błonę śluzową żołądka, bez cech naciekania błony podśluzowej i błony mięśniowej. Było to nieswoiste, limfocytowo-plazmocytowe zapalenie błony śluzowej żołądka o wysokim stopniu nasilenia. Nie stwierdzono różnicy w nasileniu zmian patologicznych pomiędzy grupami 1,3, 4,5 i 6. Ocena uszkodzeń była równa 1 (stopień 2) w grupach 1,3,4,5 i 6 ($p < 0,05$ vs grupa 2) [10].

DYSKUSJA

Nasze badanie przeprowadzone na samicach szczurów nie potwierdziło ochronnych właściwości soli lizynowej ketoprofenu względem błony śluzowej żołądka zgodnie z oczekiwaniami autorów przeprowadzających eksperyment na liniach komórkowych [3]. W 2015 roku Cimini i wsp. porównali działanie ochronne soli lizynowej ketoprofenu i ketoprofenu na żołądek, stosując model uszkodzenia błony śluzowej żołądka na linii komórkowej. W ich eksperymencie komórki błony śluzowej żołądka poddane działaniu etanolu i ketoprofenu uległy poważnemu uszkodzeniu i widoczne było uszkodzenie integralności tkanki, podczas gdy komórki wystawione na działanie etanolu i soli lizyny ketoprofenu pozostały zachowane [3]. Lizyna miała zmniejszać negatywny wpływ preparatu na błonę śluzową żołądka. Istnieje kilka leków z dodatkiem lizyny. Na przykład klonoksynian lizyny jest NLPZ. Porównywano go z paracetamolem/kodeiną (500 mg + 30 mg) w leczeniu bólu pooperacyjnego i wykazano, że daje większy efekt przeciwbólowy i mniej skutków ubocznych niż lek porównawczy [11]. Sól lizynowa ketoprofenu należy do grupy leków łączonych z lizyną [12].

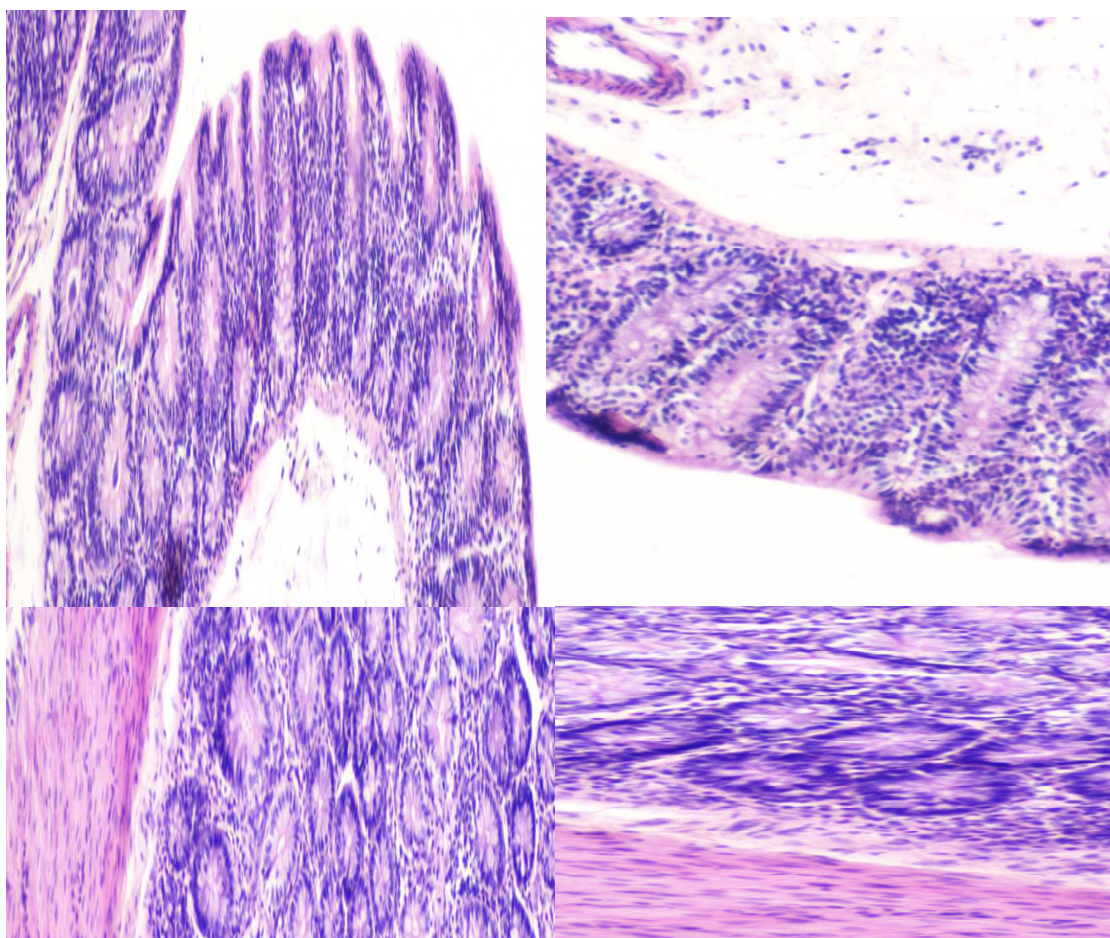
W 2021 r. Kuczyńska i in. próbowali potwierdzić działanie ochronne soli lizynowej ketoprofenu na modelu

zwierzęcym. Autorka wybrała samce szczurów i podawała im ketoprofen lub sól lizynową ketoprofenu po zatruciu etanolem przez zgłębnik dożołądkowy. Powtórzyliśmy jej eksperyment, ale na samicach szczurów. W jej eksperymencie badanie histopatologiczne żołądka nie wykazało żadnych patologii w grupie narażonych wyłącznie na sól fizjologiczną, w grupie narażonych wyłącznie na etanol oraz u samców narażonych na ketoprofen i sól fizjologiczną. Zaobserwowała nacieki limfocytowe z plazmocytami i eozynofilami w błonie śluzowej żołądków samców szczurów narażonych na działanie etanolu i ketoprofenu, a także obu grup narażonych na sól lizynową ketoprofenu (z solą fizjologiczną i etanolem) [4]. W naszym eksperymencie efekt szkodliwy NSLPZ względem błony śluzowej żołądka okazał się nawet silniejszy, wykazując uszkodzenie błony śluzowej żołądka stopnia 2 u wszystkich samic szczurów narażonych na ketoprofen, jak również sól lizynową ketoprofenu, co sugeruje, że samice są bardziej podatne na uszkodzenie błony śluzowej żołądka wywołane NLPZ niż samce.

Szkodliwy wpływ etanolu na błonę śluzową żołądka przypisuje się wzrostowi reaktywnych form tlenu, które odgrywają kluczową rolę w zwiększeniu ilości produktów peroksydacji lipidów, w tym dialdehydu malonylowego i 4-hydroksy-2-nonenalu [13].

WNIOSKI

1. Sól lizynowa ketoprofenu i ketoprofen uszkadzają błonę śluzową żołądka u samic szczurów po i bez zatrucia alkoholem.
2. Sól lizynowa ketoprofenu nie ma działania ochronnego na żołądek



Rys. 5 Wyniki badania histopatologicznego grupy 5 (leczonej solą lizynową ketoprofenu).

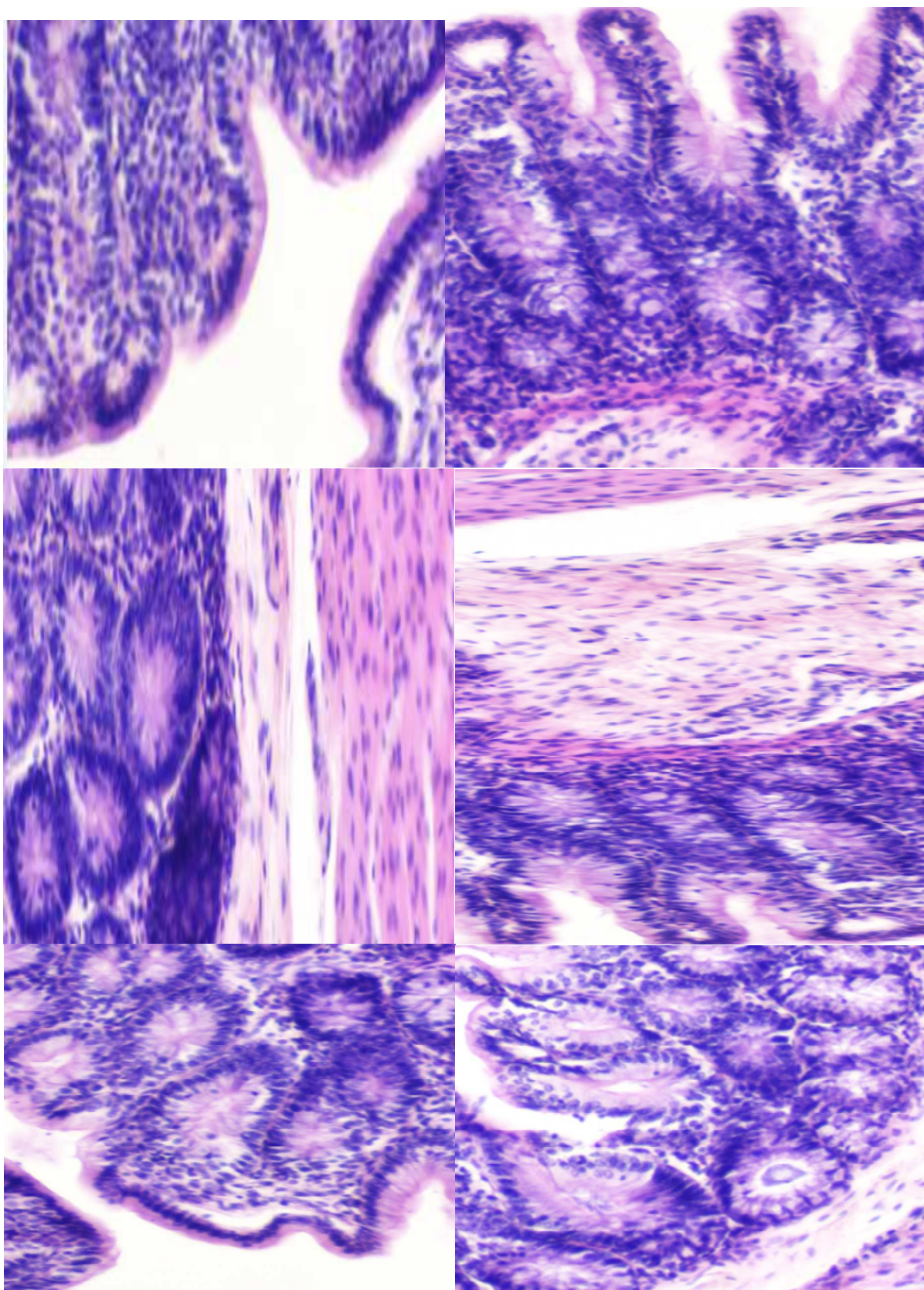


Fig. 6 Wyniki badania histopatologicznego grupy 6 (leczenie solą lizynową ketoprofenu po zatruciu etanolem).

LITERATURA

1. Ketoprofen, summary of product characteristics. (<https://www.hpra.ie/uploaded/sewdocuments>). (Accessed DEC 2023);
2. Brandolini L, d'Angelo M, Antonosante A, Villa S, Cristiano L, Castelli V, Benedetti E, Catanesi M, Aramini A, Luini A, Parashuraman S, Mayo E, Giordano A, Cimini A, Allegretti M. Differential protein modulation by ketoprofen and ibuprofen underlines different cellular response by gastric epithelium. *J Cell Physiol.* 2018 Mar;233(3):2304-2312. doi: 10.1002/jcp.26102. Epub 2017 Aug 25. PMID: 28710861;
3. Cimini A, Brandolini L, Gentile R, Cristiano L, Menghini P, Fidoamore A, Antonosante A, Benedetti E, Giordano A, Allegretti M. Gastroprotective effects of L-lysine salification of ketoprofen in ethanol-injured gastric mucosa. *J Cell Physiol.* 2015 Apr;230(4):813-20. doi: 10.1002/jcp.24809. PMID: 25287669;
4. Kuczyńska J, Nieradko-Iwanicka B. The effect of ketoprofen lysine salt on mucosa of rat stomach after ethyl alcohol intoxication. *Biomed Pharmacother.* 2021 Sep;141:111938. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111938. Epub 2021 Jul 22. PMID: 34328086;
5. Smaga A, Bogusławski S, Wróbel K, Wojtyniak B. Rozpowszechnienie behawioralnych czynników ryzyka zdrowotnego i jego zmiany w okresie pandemii COVID-19. In: Wojtyniak B., Goryński P. Eds. *Sytuacja zdrowotna ludności Polski i jej uwarunkowania 2022. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH— Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa 2022* (In Polish);
6. Barbería-Latasa M, Gea A, Martínez-González MA. Alcohol, Drinking Pattern, and Chronic Disease. *Nutrients.* 2022 May 7;14(9):1954. doi: 10.3390/nu14091954. PMID: 35565924; PMCID: PMC9100270;
7. Rungay H, Murphy N, Ferrari P, Soerjomataram I. Alcohol and Cancer: Epidemiology and Biological Mechanisms. *Nutrients.* 2021 Sep 11;13(9):3173. doi: 10.3390/nu13093173. PMID: 34579050; PMCID: PMC847018;
8. Diamond I, Messing RO. Neurologic effects of alcoholism. *West J Med.* 1994 Sep;161(3):279-87. PMID: 7975567; PMCID: PMC1011410;
9. Chikritzhs T, Livingston M. Alcohol and the Risk of Injury. *Nutrients.* 2021 Aug 13;13(8):2777. doi: 10.3390/nu13082777. PMID: 34444939; PMCID: PMC8401155;
10. X. Li, X. Qiao, C. Zhang, H. Gao, Q. Niu, T. Wu, Q. Zhang, Z. Tian. Protective effect of Holothurian intestine against indomethacin induced gastric mucosal damage in rats. *J. Ocean Univ. China*, 16 (3) (2017), pp. 547-554;
11. de los Santos AR, Di Girolamo G, Martí ML. Efficacy and tolerance of lysine clonixinate versus paracetamol/codeine following inguinal hernioplasty. *Int J Tissue React.* 1998;20(2):71-81. PMID: 9638504;
12. Ketonal Sprint, Characteristics of the Medicinal Product. (<https://product-documents/doc144060/ketonal-sprint-dokument.pdf>) . (Accessed 10 DEC.2023);
13. Paquot N. Le métabolisme de l'alcool [The metabolism of alcohol]. *Rev Med Liege.* 2019 May;74(5-6):265-267. French. PMID: 31206264.

Barbara Nieradko-Iwanicka

Zakład Higieny i Epidemiologii Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul Chodźki 7, 20-093 Lublin
e-mail: barbara.nieradko-iwanicka@umlub.pl