

Влияние трипептида Leu-Ile-Lys на активность свободнорадикального окисления и уровень экспрессии циклооксигеназы-1 и -2 в слизистой оболочке желудка при экспериментальной индометациновой язве крыс

Самира Эльшадовна Лоренц*, Олеся Николаевна Мазко,
Олеся Геннадьевна Макарова, Александр Юрьевич Жариков,
Юрий Владимирович Кореновский, Ольга Васильевна Азарова

Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия

Реферат

Цель. Определить характер влияния трипептида Leu-Ile-Lys на показатели оксидативного стресса и уровень экспрессии циклооксигеназы-1 и -2 в слизистой оболочке желудка на фоне экспериментальной индометациновой язвы.

Методы. Эксперименты проведены на 35 самцах крыс линии Wistar с массой тела 200–250 г в возрасте 2–3 мес, которые были разделены на три группы: группа сравнения (интактные крысы, 8 особей), контрольная группа (моделирование индометациновой гастропатии, 12 особей), подопытная группа (моделирование индометациновой гастропатии + введение трипептида Leu-Ile-Lys, 15 особей). Трипептид Leu-Ile-Lys, полученный методом химического синтеза (чистота образца не менее 98%), вводили внутривентрикулярно через зонд ежедневно в течение 7 дней до моделирования индометацинового повреждения слизистой оболочки желудка в дозе 11,5 мг/кг. Модель индометацинового повреждения слизистой оболочки желудка крыс воспроизводили путём однократного внутривентрикулярного введения индометацина в дозе 60 мг/кг в 1 мл изотонического раствора натрия хлорида. В гомогенате желудка крыс определяли показатели активности свободнорадикального окисления по общепринятым методикам. Для количественного определения циклооксигеназы-1 и -2 в гомогенате желудка был использован метод иммуноферментного анализа. Концентрацию определяли спектрофотометрически по интенсивности окраски образцов.

Результаты. На фоне профилактического введения трипептида Leu-Ile-Lys происходила нормализация концентрации тиобарбитурат-реактивных продуктов, рост общей антиоксидантной активности и ослабление активности антиоксидантных ферментов по сравнению с контролем. Концентрация циклооксигеназы-2 в гомогенате желудка подопытных животных была в 2,3 раза ниже уровня крыс контрольной группы.

Вывод. При использовании трипептида Leu-Ile-Lys в условиях экспериментальной индометациновой язвы желудка происходит существенное ослабление оксидативного повреждения и воспалительных процессов в слизистой оболочке желудка.

Ключевые слова: трипептид Leu-Ile-Lys, индометациновая гастропатия.

Для цитирования: Лоренц С.Э., Мазко О.Н., Макарова О.Г. и др. Влияние трипептида Leu-Ile-Lys на активность свободнорадикального окисления и уровень экспрессии циклооксигеназы-1 и -2 в слизистой оболочке желудка при экспериментальной индометациновой язве крыс. *Казанский мед. ж.* 2019; 100 (3): 439–444. DOI: 10.17816/KMJ2019-439.

Effect of Leu-Ile-Lys tripeptide on the activity of free radical oxidation and expression of cyclooxygenase-1 and -2 in gastric mucosa in experimental indomethacin-induced ulcer in rats

S.E. Lorents, O.N. Mazko, O.G. Makarova, A.Yu. Zharikov, Yu.V. Korenovskiy, O.V. Azarova
Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Abstract

Aim. To determine the effect of Leu-Ile-Lys tripeptide on indicators of oxidative stress and expression of cyclooxygenase-1 and -2 in the gastric mucosa on the background of experimental indomethacin-induced ulcer.

Methods. Experiments were performed on 35 male Wistar rats with a body mass of 200–250 g aged 2–3 months that were divided into 3 groups: the control group (intact rats, 8 animals), control group (simulation of indomethacin-induced gastropathy, 12 animals) experimental group (simulation of indomethacin-induced gastropathy + administration of Leu-Ile-Lys tripeptide, 15 animals). The tripeptide Leu-Ile-Lys obtained by chemical synthesis (sample purity at least 98%) was administered intragastrically daily for 7 days before the simulation of indomethacin-induced damage of the gastric mucosa in a dose of 11.5 mg/kg. The model of indomethacin-induced damage to the rodent gastric mucosa was reproduced by a single intragastric administration of indomethacin in a dose of 60 mg/kg in 1 ml of saline. In the stomach homogenate the activity of free radical oxidation was determined by conventional methods. For quantitative determination of cyclooxygenase-1, -2 in gastric homogenate the method of enzyme immunoassay was used. The concentration was determined spectrometrically by the color intensity of the samples.

Results. With a prophylactic administration of tripeptide Leu-Ile-Lys, concentration of thiobarbiturate-reactive products was normalized, total antioxidant activity increased and the activity of antioxidant enzymes decreased compared to the control group. The concentration of cyclooxygenase-2 in gastric homogenate from the experimental animals was 2.3 times lower than that of the control rats.

Conclusion. Use of Leu-Ile-Lys tripeptide in experimental indomethacin-induced gastric ulcer showed a significant decrease of oxidative damage and inflammation in the gastric mucosa.

Keywords: Leu-Ile-Lys tripeptide, indomethacin-induced gastropathy.

For citation: Lorents S.E., Mazko O.N., Makarova O.G. et al. Effect of Leu-Ile-Lys tripeptide on the activity of free radical oxidation and expression of cyclooxygenase-1 and -2 in gastric mucosa in experimental indomethacin-induced ulcer in rats. *Kazan medical journal.* 2019; 100 (3): 439–444. DOI: 10.17816/KMJ2019-439.

В процессе разработки нового противоязвенного средства пептидной природы нами было установлено, что пептидный комплекс из тканей свиных почек в условиях экспериментальной индометациновой язвы оказывает выраженное гастропротективное действие, которое сопровождается существенным ослаблением активности процесса свободнорадикального окисления в слизистой оболочке желудка и снижением уровня экспрессии циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) [1, 2].

В дальнейшем на основе данных об аминокислотном составе пептидного комплекса из тканей свиных почек посредством драг-дизайна нами были смоделированы 7 химических структур индивидуальных пептидов с потенциальной гастропротективной активностью, экспериментальная апробация которой позволила установить, что трипептид Leu-Ile-Lys (лейцин-изолейцин-лизин) обладает выраженным терапевтическим действием при индометациновой гастропатии, сопоставимым по силе с лекарственным препаратом омепразолом [3].

Учитывая большое значение оксидативного повреждения слизистой оболочки желудка и роль ферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в развитии гастропатии [4, 5], а также полученные ранее результаты, нас заинтересовало изучение влияния трипептида Leu-Ile-Lys на активность свободнорадикального окисления и уровень экспрессии ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в желудке крыс при экспериментальной гастропатии.

Цель исследования: определить характер влияния трипептида Leu-Ile-Lys на показатели

оксидативного стресса и уровень экспрессии ферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в слизистой оболочке желудка на фоне экспериментальной индометациновой язвы.

Эксперименты проведены на 35 самцах крыс линии Wistar с массой тела 200–250 г в возрасте 2–3 мес. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Исследования на крысах проводили согласно «Правилам надлежащей лабораторной практики» (GLP), утверждённым приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23.08.2010 №708, и требованиям Федерального закона «О защите животных от жестокого обращения» от 01.09.1997.

Экспериментальные животные были разделены на три группы:

- группа сравнения (интактные крысы, 8 особей);
- контрольная группа (моделирование индометациновой гастропатии, 12 особей);
- подопытная группа (моделирование индометациновой гастропатии + введение трипептида Leu-Ile-Lys, 15 особей).

Трипептид Leu-Ile-Lys получали методом химического синтеза на предприятии SHANGHAI APEPTIDE CO., LTD (г. Шанхай, Китайская народная республика) при посредничестве ЗАО «Эвалар» (г. Бийск, Россия). Чистота образца составляла не менее 98%.

Трипептид Leu-Ile-Lys вводили животным подопытной группы внутривентрикулярно через зонд ежедневно в течение 7 дней до моделирования индометацинового повреждения

слизистой оболочки желудка (СОЖ) в дозе 11,5 мг/кг. Последнее введение осуществляли за 1 ч до начала действия язвообразующего фактора. Животные группы сравнения получали эквивалентное количество изотонического раствора натрия хлорида в соответствующих режимах введения. Модель индометацинового повреждения СОЖ крыс воспроизводили путём однократного внутривентрикулярного введения индометацина в дозе 60 мг/кг в 1 мл изотонического раствора натрия хлорида [6, 7].

Через 4 ч после введения индометацина животных подвергали эвтаназии под эфирным наркозом, желудки извлекали, вскрывали по малой кривизне, промывали изотоническим раствором натрия хлорида, измельчали, гомогенизировали 3-кратным циклом замораживания-размораживания.

В гомогенате желудка крыс определяли показатели активности свободнорадикального окисления по общепринятым методикам [8]. Для оценки прооксидантного статуса определяли концентрацию тиобарбитурат-реактивных продуктов окисления жирных кислот (ТБРП), основной представитель которых — малоновый диальдегид, колориметрическим методом, оценивая интенсивность окраски раствора в ходе химической реакции ТБРП с тиобарбитуровой кислотой. Суммарный показатель концентрации всех прооксидантов и свободнорадикальных метаболитов — общую прооксидантную активность — определяли по интенсивности окраски флуоресцентного комплекса, образующегося при взаимодействии продуктов перекисного окисления ТВИН-80 с тиобарбитуровой кислотой.

Для оценки антиоксидантного статуса клеток определяли общую антиоксидантную активность (ОАА) и активность антиоксидантных ферментов: глутатионпероксидазы, каталазы и супероксиддисмутазы.

ОАА оценивали как интегративный показатель активности всех ферментных и неферментных факторов нейтрализации свободных радикалов по степени угнетения Fe^{2+} /аскорбат-зависимого окисления ТВИН-80 гомогенатом ткани.

Активность каталазы определяли по подавлению ферментом окисления молибдата натрия перекисью водорода.

Активность супероксиддисмутазы оценивали по содержанию в пробе нитроформазана, окрашенного продукта восстановления нитротетразолия супероксидными радикалами.

Маркёром активности глутатионпероксидазы служило определение неокисленного

глутатиона по цветной реакции с реактивом Элмана.

Для количественного определения ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в гомогенате желудка методом иммуноферментного анализа использовали набор для определения простагландин-эндопероксид-синтетазы 1,2 (PTGS 1,2) фирмы Cloud-Clone Corp. Микропланшет, входящий в данный набор, был предварительно покрыт антителами, характерными для PTGS 1,2. Затем стандарты и образцы добавляли в соответствующие лунки микропланшета с биотинилированными антителами, характерными для PTGS 1,2. Далее в каждую лунку микропланшета добавляли авидин, конъюгированный с пероксидазой хрена, и помещали в инкубатор. После этого добавлялся раствор субстрата тетраметилбензидина. Только в тех лунках, которые содержат PTGS 1,2, биотинилированные антитела и конъюгированный авидин, происходило изменение цвета.

Фермент-субстратная реакция прекращалась при добавлении раствора серной кислоты, и изменение цвета оценивали спектрометрически при длине волны 450 ± 10 нм. Концентрацию PTGS 1,2 в образцах определяли при помощи сравнения оптической плотности образцов со стандартной кривой.

Статистическая обработка проведена с помощью программы Statistica for Windows 12.0. Результаты при наличии нормальности распределения представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$), при отсутствии нормальности распределения представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me (25%; 75%). Нормальность распределения определяли по критерию Колмогорова–Смирнова в модификации Лиллиефорса. Для выявления статистической значимости межгрупповых различий при наличии нормальности распределения использовали параметрический t-критерий Стьюдента, при отсутствии нормальности распределения применяли непараметрический критерий Манна–Уитни. Разницу считали достоверной при значении $p < 0,05$ [9].

Результаты определения показателей прооксидантного и антиоксидантного статусов в СОЖ крыс представлены в табл. 1 (показатели нормальности распределения полученных данных: $K-S d < 0,2$; Lillefors $< 0,2$).

Оказалось, что концентрация ТБРП в контрольной группе при моделировании гастропатии увеличилась на 96% по сравнению с уровнем у интактных крыс. При этом в подопытной группе, где животным вводили трипептид Leu-Ile-Lys, величина описываемого показателя

Таблица 1. Показатели прооксидантного и антиоксидантного статусов в слизистой оболочке желудка экспериментальных животных

Группы	Показатели прооксидантного статуса		Показатели антиоксидантного статуса			
	ТБРП	ОПА	ОАА	ГПО	КАТ	СОД
Группа сравнения	5,2	89,2	72,4	48,4	30,9	28,7
Контрольная группа	10,2 $p_{\text{инт}}=0,024$ +96%	64,7 $p_{\text{инт}}=0,000004$ -27%	26,8 $p_{\text{инт}}=0,000003$ -63%	66,4 $p_{\text{инт}}=0,00002$ +37%	35,8 $p_{\text{инт}}=0,005$ +16%	38,2
Подопытная группа	7,1 $p_{\text{контр}}=0,0001$ -30%	74,5 $p_{\text{инт}}=0,026$ -20% $p_{\text{контр}}=0,0006$ +15%	40,6 $p_{\text{инт}}=0,0002$ -45% $p_{\text{контр}}=0,00002$ +51%	26,7 $p_{\text{инт}}=0,0004$ -45% $p_{\text{контр}}=0,00002$ -60%	11,9 $p_{\text{инт}}=0,0001$ -61% $p_{\text{контр}}=0,00002$ -67%	8,1 $p_{\text{инт}}=0,001$ -72% $p_{\text{контр}}=0,00005$ -79%

Примечание: ТБРП — концентрация тиобарбитурат-реактивных продуктов (мкмоль); ОПА — общая прооксидантная активность (%); ОАА — общая антиоксидантная активность (%); ГПО — активность глутатионпероксидазы (%); КАТ — активность каталазы (%); СОД — активность супероксиддисмутазы (%); $p_{\text{инт}}$ — показатель статистической значимости различий относительно группы сравнения; $p_{\text{контр}}$ — показатель статистической значимости относительно контрольной группы. Данные приведены в виде среднего значения показателя.

теля была на 30% меньше, чем в контрольной группе, и практически не отличалась от уровня группы сравнения.

На этом фоне ОАА у крыс контрольной группы уменьшалась на 63% относительно уровня интактных животных. В подопытной группе при применении трипептида Leu-Ile-Lys ОАА была на 51% больше, чем в контроле.

Активность глутатионпероксидазы в контрольной группе относительно группы сравнения возросла на 37%. В то же время величина данного показателя в подопытной группе существенно снижалась как относительно контроля, так и в сравнении с интактными животными: на 60 и 45% соответственно.

Активность каталазы в контрольной группе также увеличилась относительно группы сравнения — на 16%. В подопытной группе произошло уменьшение активности каталазы относительно контрольной группы на 67%, а в сравнении с интактными животными — на 61%.

Активность супероксиддисмутазы в СОЖ крыс контрольной группы приобретала тенденцию к росту относительно интактных крыс, однако это изменение не носило статистически значимого характера. В условиях коррекции экспериментальной гастропатии изучаемым трипептидом Leu-Ile-Lys зарегистрировано существенное снижение активности супероксиддисмутазы: на 79% относительно контроля заболевания и на 72% относительно группы сравнения.

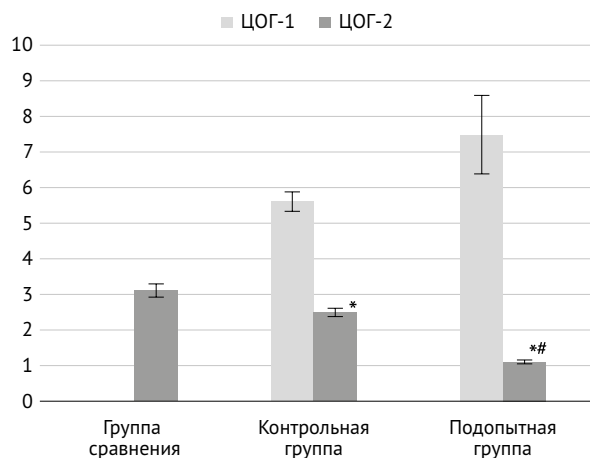


Рис. 1. Показатели уровня экспрессии циклооксигеназы-1 и -2 в слизистой оболочке желудка экспериментальных крыс. По вертикальной оси — значения концентрации циклооксигеназы-1 и -2 в гомогенате слизистой оболочки желудка крыс (нг/мл), по горизонтальной оси — экспериментальные группы. Статистическая значимость различий: *относительно группы сравнения; #относительно контрольной группы. ЦОГ — циклооксигеназа

Результаты определения показателей уровня экспрессии ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в СОЖ крыс представлены на рис. 1 (показатели нормальности распределения полученных данных: K-S $d > 0,2$; Lillefors $> 0,2$).

Оказалось, что концентрация ЦОГ-1 в гомогенате желудков крыс не имела статистически значимых различий между контрольной и подопытной группами: $5,4 \pm 0,26$ и $7,5 \pm 1,09$ нг/мл соответственно.

На этом фоне концентрация ЦОГ-2, в группе сравнения составившая $3,1 \pm 0,18$ нг/мл, у крыс контрольной группы (которым с целью моделирования гастропатии вводили индометацин) уменьшилась в 1,2 раза и составила $2,5 \pm 0,12$ нг/мл ($p=0,016$). При этом в подопытной группе (где крысы получали трипептид Leu-Ile-Lys) концентрация ЦОГ-2 составила $1,1 \pm 0,05$ нг/мл, что было ниже уровня крыс контрольной группы в 2,3 раза ($p < 0,00001$), а также в 2,8 раза уступало уровню у интактных крыс ($p < 0,00001$).

Таким образом, проведённые эксперименты показали, что применение трипептида Leu-Ile-Lys в условиях индометациновой гастропатии сопровождалось существенным ослаблением оксидативного повреждения СОЖ.

Во-первых, об этом свидетельствовала нормализация концентрации ТБРП, значительно повышенной в контроле заболевания. Как известно, основным представителем ТБРП служит малоновый диальдегид — главный продукт перекисного окисления мембранных фосфолипидов. По-видимому, на фоне применения трипептида Leu-Ile-Lys ослаблялось повреждение мембран клеток желудка активными формами кислорода.

Во-вторых, происходило существенное увеличение ОАА — интегративного показателя ферментной и неферментной антиоксидантной защиты клеток.

В-третьих, были зафиксированы весьма характерные изменения активности антиоксидантных ферментов: глутатионпероксидазы, каталазы и супероксиддисмутазы. В контроле заболевания их активность значительно возросла, что указывает на компенсаторную реакцию ферментных систем клеток в ответ на развивающийся оксидативный стресс. На фоне же применения трипептида Leu-Ile-Lys активность всех трёх ферментов существенно уменьшалась. Вероятно, под влиянием трипептида Leu-Ile-Lys происходило снижение интенсивности образования свободных радикалов кислорода, вследствие чего не возникало субстратной стимуляции ферментной активности. В совокупности это может свидетельствовать о прямом антиоксидантном действии трипептида Leu-Ile-Lys.

Достаточно давно существует мнение, что оксидативное повреждение СОЖ при язвенной болезни тесно сопряжено развитием воспалительных процессов, маркёром которых служит уровень экспрессии провоспалительного фермента ЦОГ-2 [10, 11]. В наших экспериментах было установлено, что концентрация ЦОГ-2

в контроле снижается относительно показателей интактных крыс, что логично объясняется неселективным ингибирующим действием индометацина на ЦОГ-1 и ЦОГ-2. Важно, что в этих условиях происходило существенное снижение уровня ЦОГ-2 в желудках крыс подопытной группы, получавших лечение, относительно контроля. Это указывает на ослабление воспалительных процессов в СОЖ крыс, которым вводили изучаемый трипептид. Не исключено, что в основе такого эффекта лежало антиоксидантное действие трипептида Leu-Ile-Lys, выявленное в настоящем исследовании.

ВЫВОД

Применение трипептида Leu-Ile-Lys в условиях экспериментальной индометациновой язвы желудка сопровождается существенным ослаблением оксидативного повреждения слизистой оболочки желудка, о чём свидетельствуют нормализация концентрации тиобарбитурат-реактивных продуктов окисления жирных кислот, рост общей антиоксидантной активности и ослабление активности антиоксидантных ферментов. Кроме того, происходит ослабление воспалительных процессов в слизистой оболочке желудка, на что указывает существенное снижение уровня экспрессии провоспалительного фермента циклооксигеназы-2.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лоренц С.Э., Жариков А.Ю., Бобров И.П. и др. Гастропротекторное действие пептидного комплекса из тканей свиных почек при экспериментальной «индометациновой» язве у крыс. *Сибирский науч. мед. ж.* 2017; 37 (6): 5–9. [Lorents S.E., Zharikov A.Yu., Bobrov I.P. et al. Gastroprotective action of the peptide complex from pig kidneys in experimental «indometacin» ulcer in rats. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal.* 2017; 37 (6): 5–9. (In Russ.)]
2. Лоренц С.Э., Жариков А.Ю., Мазко О.Н. и др. Влияние пептидного комплекса из тканей свиных почек на показатели свободнорадикального окисления и экспрессию ЦОГ-1,2 при индометацин-индуцированной гастропатии. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.* 2018; 154 (6): 81–85. [Lorents S.E., Zharikov A.Yu., Mazko O.N. et al. Influence of the peptide complex from pork kidneys tissues on indicators of free-radical oxidation and the expression of COX-1,2 in experimental gastropathy. *Ehksperimental'naya i klinicheskaya gastroehnterologiya.* 2018; 154 (6): 81–85. (In Russ.)]
3. Zharikov A.Yu., Lorent S.E., Bobrov I.P. et al. Pharmacologically active tripeptide Leu-Ile-Lys in indometacin-induced gastric ulcer. *Intern. J. Biomed.* 2018; 8 (4): 351–354. DOI: 10.21103/Article8(4)_OA17.

4. Щербатых А.В., Кулинский В.И., Большешапов А.А., Соколова С.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система при язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки и постгастрорезекционных синдромах. *Сибирский науч. мед. ж.* 2005; (3): 9–13. [Shcherbatykh A.V., Kulinskiy V.I., Bol'sheshapov A.A., Sokolova S.V. Lipid peroxydation and antioxydative system in peptic ulcer disease and postgastroresection syndrome. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal.* 2005; (3): 9–13. (In Russ.)]
5. Demir S., Yilmaz M., Köseoğlu M. et al. Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *Turk. J. Gastroenterol.* 2003; 14 (1): 39–43. PMID: 14593536.
6. Крылова С.Г., Турецкова В.Ф., Макарова О.Г. и др. Сравнительное исследование противоязвенной активности экстракта коры осины сухого в различных лекарственных формах. *Тихоокеанский мед. ж.* 2015; 2 (60): 18–21. [Krylova S.G., Turetskova V.F., Makarova O.G. et al. Comparative study of antiulcer activity of dry aspen bark extracts in different dosage forms. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2015; 2 (60): 18–21. (In Russ.)]
7. Турецкова В.Ф., Макарова О.Г., Талыкова Н.М. и др. Способ получения средства, обладающего противоязвенным действием. Патент на изобретение RUS 2533228. Бюлл. №32 от 20.11.2014. [Turetskova V.F., Makarova O.G., Talykova N.M. et al. *A method for obtaining a medication with an anti-ulcer effect.* Patent for invention RUS 2533228. Bulletin №32 issued on 20.11.2014. (In Russ.)]
8. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. и др. Методы доклинического (экспериментального) исследования влияния лекарственных средств на функцию почек. Новосибирск; Гео. 2013; 84 с. [Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V. et al. *Metody doklinicheskogo (ehksperimental'nogo) issledovaniya vliyaniya lekarstvennykh sredstv na funktsiyu pochek.* (Methods of preclinical (experimental) study of the effect of drugs on renal function.) Novosibirsk: Geo. 2013; 84 p. (In Russ.)]
9. Хафизьянова Р.Х., Бурькин И.М., Алеева Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии. Казань: Медицина. 2006; 374 с. [Khafiz'yanova R.Kh., Burykin I.M., Aleeva G.N. *Matematicheskaya statistika v ehksperimental'noy i klinicheskoy farmakologii.* (Mathematical statistics in experimental and clinical pharmacology.) Kazan': Meditsina. 2006; 374 p. (In Russ.)]
10. Gill R., Tsung A., Billiar T. Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors. *Free Radical Biol. Med.* 2010; 48 (9): 1121–1132. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.01.006.
11. Uchida K. A lipid-derived endogenous inducer of COX-2: a bridge between inflammation and oxidative stress. *Mol. Cells.* 2008, 25 (3): 347–351. PMID: 18483467.