

УДК 615.36+618.46+616-002.44+615.243+616.33

DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.56.3.2022.503>

Кошурба І.В.<sup>1</sup> , Гладких Ф.В.<sup>2,3</sup> , Чиж М.О.<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Комунальне некомерційне підприємство «Чернівецький обласний перинатальний центр», м. Чернівці, Україна

<sup>2</sup> Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, м. Харків, Україна

<sup>3</sup> Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна

## Модуляція ліпопероксидації та енергетичного обміну в слизовій оболонці шлунка як механізм активності кріоекстракту плаценти в загоєнні стрес-індукованого ерозивно-виразкового ушкодження

For citation: Gastroenterologia. 2022;56(3):149-155. doi: 10.22141/2308-2097.56.3.2022.503

**Резюме. Актуальність.** Виразкова хвороба посідає провідне місце в загальній структурі захворювань органів травлення: її поширеність становить 6,00–10,0 % серед населення розвинених країн, а смертність коливається від 6 до 9,7 на 100 тис. населення. Важливим етіологічним чинником зазначеної патології виступає нервово-психічний фон, насамперед стрес, що при повторному впливі стає ініціюючим фактором порушення фізіологічної рівноваги між елементами «агресії» та «захисту» слизової оболонки шлунка (СОШ).

**Мета:** встановити механізми захисної активності кріоекстракту плаценти (КЕП) за даними біохімічних показників перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту в слизовій оболонці шлунка на моделі стрес-індукованого ерозивно-виразкового ушкодження. **Матеріали та методи.** Дослідження проведено на 28 нелінійних лабораторних щурах-самцях масою 200–220 г. Стрес-індуковану виразку шлунка моделювали в умовах водно-імобілізаційного стресу у щурів за методикою Takagi K.Y. et al. Вміст реактантів з тіобарбітуровою кислотою у СОШ визначали спектрофотометрично за методом Asakawa T. et al., активність каталази у СОШ — спектрофотометрично за методом Королюка М.А. та співавт., вміст відновленого глутатіону у СОШ — спектрофотометрично за методом Beutler E.D. et al., вміст аденилових нуклеотидів у СОШ — хроматографічним методом. Енергетичний заряд розраховували за формулою Atkinson D.E. **Результати.** Профілактичне п'ятиденне застосування КЕП призвело до ослаблення вираженості стрес-індукованих процесів ПОЛ та енергетичного дисбалансу у СОШ. Так, встановлено, що у щурів, яким вводили КЕП, відмічено статистично вірогідне ( $p < 0,001$ ) підвищення вмісту аденозинтрифосфату на 73,3 %, аденозиндифосфату ( $p < 0,001$ ) — на 37,3 % та зниження вмісту аденозинмонофосфату ( $p < 0,001$ ) на 47,6 %, які загалом призвели до підвищення енергетичного заряду ( $p < 0,001$ ) на 35,1 % відносно показників щурів, підданих водно-імобілізаційному стресу без корекції (контрольна група). Установлено, що введення КЕП призвело до статистично вірогідного ( $p < 0,001$ ) зростання антиоксидантно-прооксидантного індексу в 3,1 раза відносно показників контрольної групи, що становив  $26,60 \pm 0,96$  і  $8,60 \pm 0,43$  відповідно.

**Висновки.** Профілактичне п'ятиденне введення КЕП призводить до відновлення балансу в системі аденилових нуклеотидів та відповідно до статистично вірогідного ( $p < 0,001$ ) зростання енергетичного заряду на 35,1 % відносно показників тварин контрольної групи. Пригнічення стрес-індукованої гіперактивності ПОЛ у СОШ виступає одним із механізмів його гастропротективної активності.

**Ключові слова:** ерозивно-виразкове ушкодження, кріоконсервованний екстракт плаценти, водно-імобілізаційний стрес, противиразкова активність, енергетичний заряд, перекисне окиснення ліпідів

© 2022. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Кошурба І.В., Комунальне некомерційне підприємство «Чернівецький обласний перинатальний центр», вул. Буковинська, буд. 1а, м. Чернівці, 58000, Україна; e-mail: koshurba@gmail.com; тел.: +38 (095) 417-80-06.

For correspondence: Koshurba I.V., Municipal Non-Profit Enterprise "Chernivtsi Regional Perinatal Center", 1a, Bukovynska st., Chernivtsi, 58000, Ukraine; e-mail: koshurba@gmail.com; tel.: +38 (095) 417-80-06.

Full list of authors information is available at the end of the article.

## Вступ

Виразкова хвороба (ВХ) посідає провідне місце в загальній структурі захворювань органів травлення. Від цього захворювання страждають 6,0–10,0 % населення розвинених країн, а смертність коливається від 6 до 9,7 на 100 тис. населення. Для України характерними є висока захворюваність та частота рецидивування (20–25 %) порівняно з іншими європейськими країнами [1].

Серед етіопатогенетичних механізмів розвитку ерозивно-виразкових ушкоджень слизової оболонки (рис. 1) на сьогодні виділяють ацидопептичний фактор, інфекцію, викликану *Helicobacter pylori*, імунологічні та метаболічні порушення, зокрема процеси вільнорадикального окиснення, та ін. Важливим етіологічним чинником патологічного процесу виступає нервово-психічний фон, насамперед стрес, що при повторному впливі стає ініціюючим фактором порушення фізіологічної рівноваги між елементами «агресії» та «захисту» слизової оболонки травного тракту. Відомо, що ульцерогенна дія стресу реалізується двома шляхами: гормональним та нейрогенним — так звана кортико-вісцеральна теорія патогенезу ВХ. Перший призводить до посилення шлункової секреції й циркуляторної ішемії слизової оболонки шлунка (СОШ) внаслідок підвищення рівня стероїдних гормонів та порушення їх співвідношення з адренкортикотропним гормоном, другий реалізується за допомогою гіперактивації гіпоталамуса та ядер блукаючого нерва (*n. vagus*) [2–4]. Таким чином, патогенетичний каскад стрес-індукованих ерозивно-виразкових ушкоджень включає: дія стресового чинника → виразкування СОШ → вогнищева ішемія СОШ → порушення резистентності до кислотно-пептичного фактора шлункового соку [5–7].

Окреме значення у патогенезі патологічного процесу має накопичення в тканинах проміжних продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів клітинних мембран, які здатні гальмувати проліферативні процеси та тим самим знижувати регенеративний потенціал СОШ. Індукція перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) призводить до підвищення проникності біологічних мембран, витоку ферментів із лізосом, інактивації ензимів аеробного окиснення та роз'єднання окисного

фосфорилування, що сприяє ослабленню механізмів автоцитопротекції СОШ [4–7].

Окреме значення має дискоординація діяльності циклазу у СОШ. Порушення діяльності циклазних систем клітин СОШ спричиняють недостатність простагландинів, здатність активувати гуанілатциклазу, а зниження активності аденілатциклази пов'язане з впливом гіпоксії, зокрема, внаслідок зменшення кількості аденозинтрифосфату, що відіграє ключову роль у підтримці клітинного гомеостазу СОШ [4–6].

У лікуванні знайшли застосування препарати різних фармакологічних груп, які впливають на окремі низки етіології та патогенезу захворювання. Особливу увагу привертають дані про гастропротективну дію (противиразкову активність) вітчизняного біотехнологічного засобу з полівекторним механізмом дії — препарату кріоконсервованого екстракту плаценти (КЕП) людини, який створено фахівцями Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (ІПКіК НАН України) [9–12].

**Мета дослідження:** встановити механізми захисної активності КЕП за даними біохімічних показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в СОШ на моделі стрес-індукованого ерозивно-виразкового ушкодження.

## Матеріали та методи

Дослідження проведені на 28 нелінійних лабораторних щурах-самцях масою 200–220 г, розподілених на 4 групи: I — інтактні щури (n = 7); II група (контрольна група) — щури зі стрес-індукованим ураженням СОШ (n = 7); III група (n = 7) — щури зі стрес-індукованим ураженням СОШ, яким у профілактичному режимі вводили внутрішньом'язово (в/м) КЕП («Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» (Державне підприємство «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, НАМН та МОЗ України», м. Харків, Україна); IV група (n = 7) — щури зі стрес-індукованим ураженням СОШ, яким у профілактичному режимі за схемою, аналогічно введенню КЕП, внутрішньошлунково вводили інгібітор протонної помпи езомепразол у дозі 50 мг/кг [14–16].

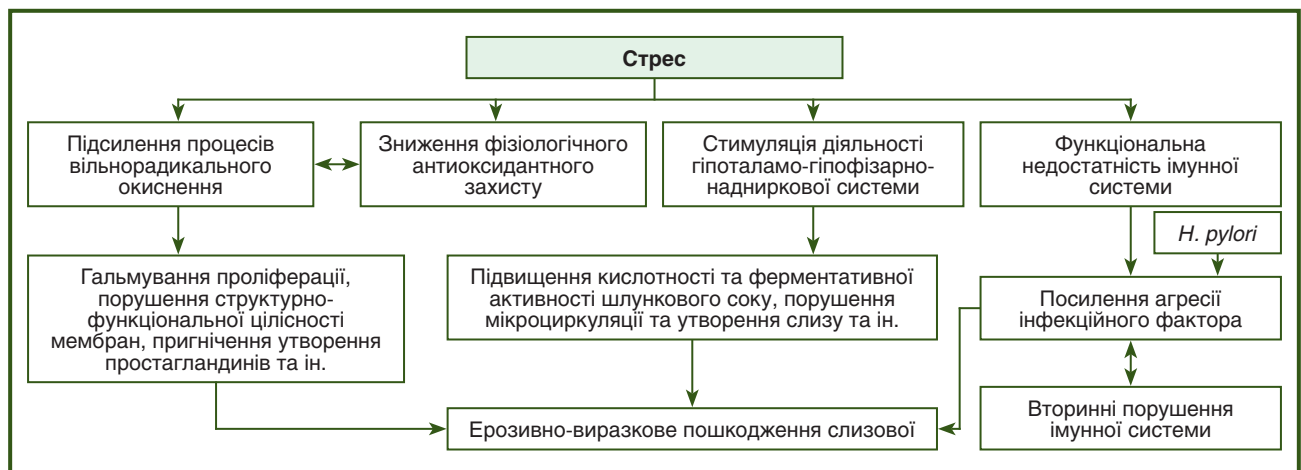


Рисунок 1 — Етіопатогенез ВХ [3, 8]

Препарат КЕП «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» згідно з інструкцією застосовується у пацієнтів парентерально в разовій дозі 1,8 мл. Відповідно разова доза для щурів становить:  $(1,8 \text{ мл}/70 \text{ кг}) \times 6,35 = 0,16 \text{ мл}/\text{кг}$  маси тіла або відповідно 0,02 мл/100 г маси тіла щура [13, 15]. Перед застосуванням препарату «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» разову дозу (0,16 мл/кг) екстемпорально (ex tempore — за потребою) розводили у 0,9% р-ні NaCl (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна) із розрахунку 0,1 мл 0,9% р-ну NaCl/100 г маси тіла та вводили в/м у профілактичному режимі 1 р/д упродовж 5 днів [10, 11].

Стрес-індуковане виразкове ушкодження СОШ моделювали в умовах водно-імобілізаційного стресу (ВІС) у щурів, який на рівні патобіохімічних змін у травній системі є відповідником гострого стресу в людини [7, 17]. ВІС моделювали за методикою Takagi K.Y. et al. [17]. Щурів іммобілізували в індивідуальних плексигласових пеналах за методом Когана О.Х. та вертикально занурювали до рівня яремної ямки у воду, температура якої становила  $23,0 \pm 0,5$  °С. Тварин витримували у воді протягом 5 год, після чого виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним рауш-наркозом. Екстирповані шлунки розкривали по великій кривизні (curvatura ventriculi major), промивали у 0,9% р-ні NaCl. Для отримання гомогенату СОШ перфузували холодним (+4 °С) буферним розчином та гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло).

Вміст реактивів із тіобарбітуровою кислотою (ТБК-РП) у СОШ визначали спектрофотометрично за методом Asakawa T. et al. [18]. Активність каталази у СОШ визначали спектрофотометрично за методом Королюка М.А. та співавт. [18]. Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) розраховували за формулою:  $\text{АПІ} = (\text{активність каталази} \times 100) / \text{вміст ТБК-РП}$ . Вміст відновленого глутатіону (ВГ, G-SH) у СОШ визначали спектрофотометрично за методом Beutler E.D. et al. [18] за реакцією з 5,5-дитіо-біс-2-нітробензойною кислотою. Вміст аденілових нуклеотидів у СОШ (аденозинмонофосфорної кислоти (АМФ); аденозиндифосфорної кислоти (АДФ); аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ)) досліджували в депротейнізованому гомогенаті СОШ хроматографічним методом [19]. Вміст аденілових нуклеотидів виражали в мкмоль/г сухої тканини. Енергетичний заряд (ЕЗ) розраховували за формулою Atkinson D.E. [19]:  $\text{ЕЗ} = (2 \times \text{АТФ} + \text{АДФ}) / (2 \times (\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ}))$ .

Для проведення патоморфологічних досліджень фрагменти шлунка фіксували в 10,0% розчині нейтрального формаліну. Гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозинном.

**Біоетичні аспекти дослідження.** Усі експериментальні дослідження над лабораторними тваринами виконані з урахуванням вимог належної лабораторної практики Good Laboratory Practice, відображених у настанові «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика», затвердженій наказом МОЗ України № 95 від 16 лютого 2009 р. і з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що ви-

користовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 р., Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, Наказу МОЗ України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». До початку експерименту щури впродовж 14 діб перебували в умовах карантину (Наказ № 755 від 12.08.1997 р. «Структура та утримання експериментальних біологічних клінік»), після чого проводилась рандомізація на групи по 7 особин у кожній із подальшим утриманням в умовах стандартного водно-харчового раціону (Наказ № 163 від 10.03.1996 р. «Про добові норми годування лабораторних тварин та продуцентів») із вільним доступом (ad libitum) до води та їжі [15]. Комплексну програму досліджень розглянуто та погоджено Комітетом з біоетики при ІПКіК НАН України (витяг із протоколу № 2 від 3 січня 2022 р.).

**Статистична обробка результатів.** Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями Microsoft Office Excel 2003; 2013. Оцінку характеру розподілу величин проводили з використанням W-критерію Шапіро — Уїлка. Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена. При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Стьюдента. При ненормальному розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали попарно за непараметричним ранговим U-критерієм Манна — Уїтні. Вірогідність відмінностей між відсотковими частками якісних параметрів в альтернативній формі визначали за значенням F-критерію кутового перетворення Фішера (F-test). Цифрові дані в разі нормального розподілу величин наведені у вигляді  $M \pm m$  ( $M \pm SE$ ), де  $M$  — середнє арифметичне значення,  $m$  ( $SE$ ) — стандартна похибка середнього арифметичного, або  $M$  (95% ДІ: 5–95 %), де 95% ДІ — 95% довірчий інтервал (Confidence interval). При ненормальному розподілі отриманих величин дані наведені у вигляді  $Me$  [LQ; UQ], де  $Me$  — медіана, [LQ; UQ] — верхня межа нижнього (першого) квартиля (lower quartile — LQ) та нижня межа верхнього (третього) квартиля (upper quartile — UQ) [20].

## Результати та обговорення

Дослідження показало, що на тлі ВІС у всіх тварин контрольної групи відмічаються виражені ерозивно-виразкові ушкодження СОШ, що узгоджувалось зі встановленими патобіохімічними змінами у системі ПОЛ та енергетичного обміну (табл. 1). Так, на тлі ВІС у СОШ відмічене статистично вірогідне ( $p < 0,001$ ) зростання вмісту ТБК-РП на 81,0 % та відповідне зниження ( $p < 0,001$ ) активності каталази на 59,1 %, що призвело до зниження ( $p < 0,001$ ) АПІ на 77,5 % відносно показників інтактних щурів. Ці зміни підтверджува-

лись статистично вірогідним ( $p < 0,001$ ) зменшенням вмісту G-SH на 37,4 % щодо показників інтактних тварин (табл. 1).

Ерозивно-виразкове ушкодження СОШ під дією ВІС мало патоморфологічне підтвердження, на що вказували дефекти епітелію з руйнуванням залоз шлунка з формуванням вогнищ некрозу (рис. 2).

Крім встановленої активації процесів ПОЛ на тлі ВІС нами показане статистично вірогідне ( $p < 0,001$ ) зниження значення енергетичного заряду в СОШ (рис. 3) на 28,9 % відносно показників інтактних щурів, що обумовлене зниженням вмісту АТФ ( $p < 0,001$ )

на 46,9 %, АДФ ( $p < 0,001$ ) — на 25,6 % та підвищенням АМФ ( $p < 0,001$ ) у 2,2 раза відносно показників інтактних щурів, що узгоджувалось із даними літератури [21].

Профілактичне п'ятиденне застосування КЕП призвело до ослаблення вираженості стрес-індукованих процесів ПОЛ та енергетичного дисбалансу в СОШ (табл. 1, 2). Як відомо, продукти ПОЛ сприяють агрегації тромбоцитів, зменшенню синтезу гастропротекторних простагландинів, формуванню синдрому цитолізу, виходу факторів згортання крові та пригніченню поділу та регенерації клітин. ТБК-РП виступають ендоген-

**Таблиця 1 — Вплив КЕП за умов профілактичного режиму введення на біохімічні показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах СОШ щурів,  $M \pm m$  (95% ДІ),  $n = 28$**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	Контроль (ВІС)	ВІС + КЕП	ВІС + езомепразол
n	7	7	7	7
ТБК-РП, мкмоль/кг тканини	11,3 ± 0,4 (95% ДІ: 10,5–12,1)	20,4 ± 0,6 (95% ДІ: 19,3–21,5) $p_{1-2} < 0,001$	13,3 ± 0,5 (95% ДІ: 12,3–14,3) $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} < 0,001$	15,3 ± 0,4 (95% ДІ: 14,6–16,0) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,01$
Каталаза, мкат/кг тканини	4,3 ± 0,2 (95% ДІ: 3,9–4,7)	1,80 ± 0,07 (95% ДІ: 1,6–1,9) $p_{1-2} < 0,001$	3,50 ± 0,12 (95% ДІ: 3,3–3,8) $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} < 0,001$	3,20 ± 0,08 (95% ДІ: 3,0–3,3) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,05$
Відновлений глутатіон (G-SH), мкмоль/г тканини	3,90 ± 0,09 (95% ДІ: 3,7–4,0)	2,40 ± 0,07 (95% ДІ: 2,3–2,6) $p_{1-2} < 0,001$	3,70 ± 0,09 (95% ДІ: 3,5–3,8) $p_{1-3} = 0,1$ $p_{2-3} < 0,001$	3,00 ± 0,06 (95% ДІ: 2,9–3,1) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,01$

**Примітки:** індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;  $p_{1-2}$  — різниця статистичної вірогідності розбіжності показників.

**Таблиця 2 — Вплив КЕП за умов профілактичного режиму введення на вміст аденілових нуклеотидів та рівень енергетичного заряду за Atkinson D.E. в гомогенатах СОШ щурів,  $M \pm m$  (95% ДІ),  $n = 28$**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	Контроль (ВІС)	ВІС + КЕП	ВІС + езомепразол
n	7	7	7	7
АТФ, мкмоль/г сухої тканини	2,31 ± 0,05 (95% ДІ: 2,21–2,41)	1,23 ± 0,04 (95% ДІ: 1,15–1,31) $p_{1-2} < 0,001$	2,13 ± 0,03 (95% ДІ: 2,07–2,18) $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} < 0,001$	1,54 ± 0,04 (95% ДІ: 1,46–1,63) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} < 0,001$
АДФ, мкмоль/г сухої тканини	1,29 ± 0,03 (95% ДІ: 1,23–1,34)	0,96 ± 0,04 (95% ДІ: 0,87–1,04) $p_{1-2} < 0,001$	1,31 ± 0,03 (95% ДІ: 1,26–1,37) $p_{1-3} = 0,2$ $p_{2-3} < 0,05$	1,11 ± 0,07 (95% ДІ: 0,97–1,26) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} = 0,06$ $p_{3-4} = 0,03$
АМФ, мкмоль/г сухої тканини	0,53 ± 0,03 (95% ДІ: 0,47–0,59)	1,17 ± 0,03 (95% ДІ: 1,12–1,23) $p_{1-2} < 0,001$	0,61 ± 0,05 (95% ДІ: 0,52–0,70) $p_{1-3} = 0,15$ $p_{2-3} < 0,001$	0,94 ± 0,06 (95% ДІ: 0,83–1,05) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} < 0,01$

**Примітки:** індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;  $p_{1-2}$  — різниця статистичної вірогідності розбіжності показників.

ними альдегідами, які є клініко-лабораторними маркерами оксидативного стресу та широко застосовуються для контролю ефективності лікування цілої низки захворювань. Установлено, що у тварин, підданих ВІС, яким превентивно вводили КЕП, відмічено статистично вірогідне ( $p < 0,001$ ) у 3,1 рази вище значення АПІ в гомогенатах СОШ, що лише на 30,9 % було нижче за показники інтактних шурів та перевищувало за ефективністю езомепразол: показник АПІ у шурів, яким вводили вказаний кислотосупресивний препарат, на 45,8 % був нижче ( $p < 0,001$ ) за показники інтактних тварин. Крім того, застосування КЕП призвело до ви-

раженішого порівняно із застосуванням езомепразолу нівелювання стрес-індукованого зниження вмісту G-SH (табл. 2). Так, вміст G-SH у шурів, яким вводили КЕП, становив  $3,70 \pm 0,09$  (95% ДІ: 3,5–3,8) мкмоль/г тканини, а у тварин, яким у профілактичному режимі вводили езомепразол, —  $3,00 \pm 0,06$  (95% ДІ: 2,9–3,1) мкмоль/г тканини, що відповідно на 5,2 та 23,0 % було нижче за показники інтактних шурів ( $3,90 \pm 0,09$  (95% ДІ: 3,7–4,0) мкмоль/г тканини).

Отримані дані вказують на здатність КЕП нівелювати стрес-індуковану активацію процесів ПОЛ у СОШ за умов профілактичного режиму застосування.

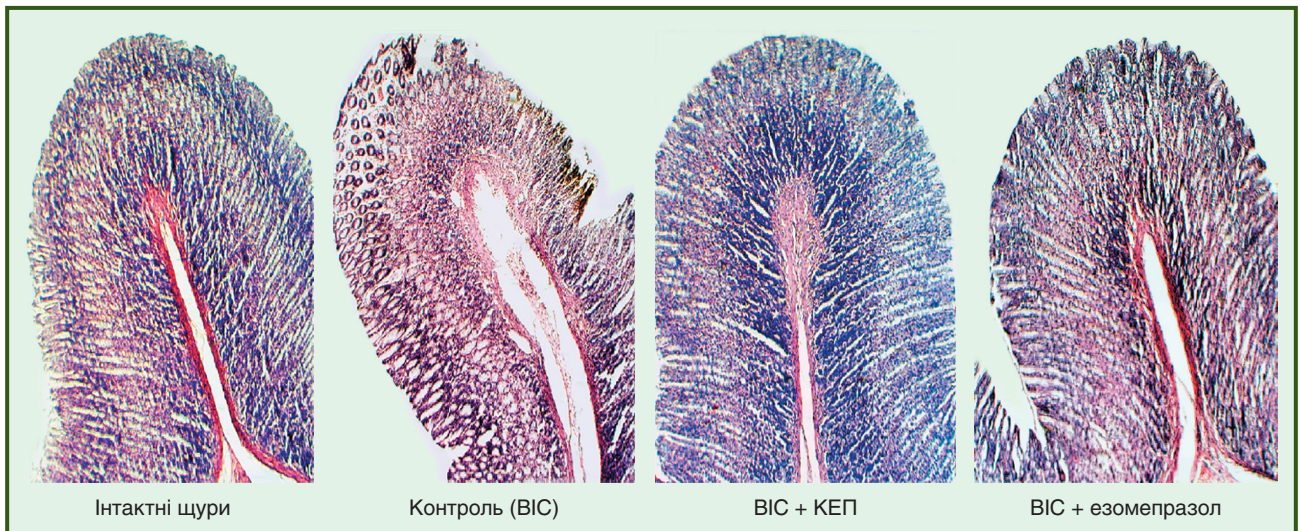
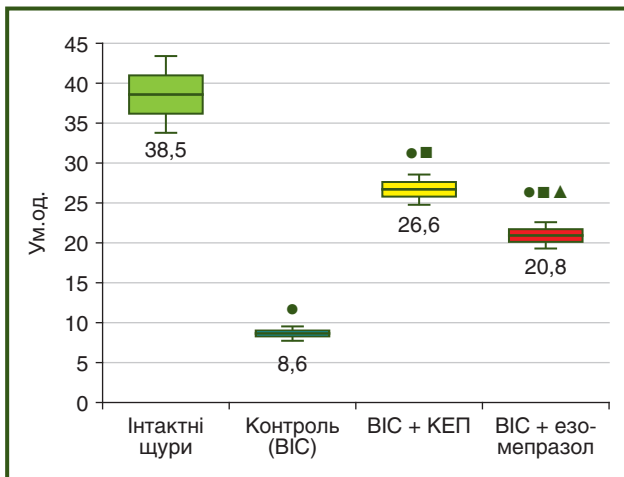
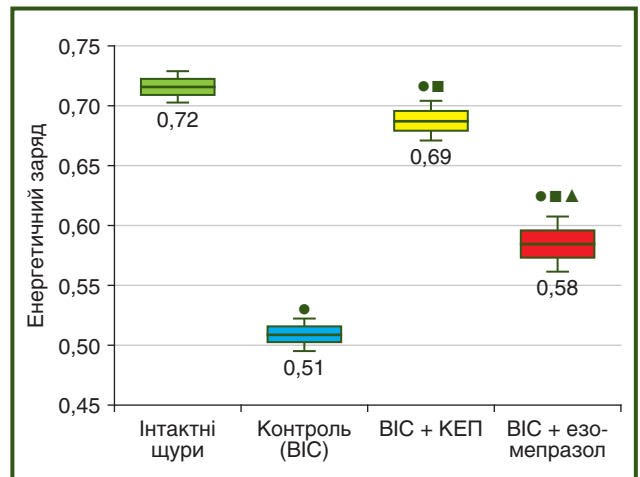


Рисунок 2 — Морфоструктура епітелію СОШ,  $\times 100$



**Примітка.** Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів — 95% довірчий інтервал. Горизонтальна лінія всередині боксу — середнє арифметичне значення; ● —  $p \leq 0,05$  відносно показників інтактних шурів, ■ —  $p \leq 0,05$  відносно показників шурів, підданих ВІС; ▲ —  $p \leq 0,05$  відносно показників шурів, підданих ВІС, яким вводили езомепразол.

Рисунок 3 — Вплив КЕП та езомепразолу на значення антиоксидантно-прооксидантного індексу в гомогенатах СОШ



**Примітка.** Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів — 95% довірчий інтервал. Горизонтальна лінія всередині боксу — середнє арифметичне значення; ● —  $p \leq 0,05$  відносно показників інтактних шурів, ■ —  $p \leq 0,05$  відносно показників шурів, підданих ВІС; ▲ —  $p \leq 0,05$  відносно показників шурів, підданих ВІС, яким вводили езомепразол.

Рисунок 4 — Вплив КЕП та езомепразолу на рівень енергетичного заряду за David E. Atkinson в гомогенатах СОШ

Оцінка впливу профілактичного введення КЕП на енергетичний обмін у СОШ на тлі ВІС показала здатність досліджуваного кріоекстракту модулювати стрес-індуковані зрушення вмісту аденілових нуклеотидів (табл. 2). Так, встановлено, що в щурів, яким вводили КЕП, відмічено статистично вірогідне ( $p < 0,001$ ) підвищення вмісту АТФ на 73,3 %, АДФ ( $p < 0,001$ ) — на 37,3 % та зниження вмісту АМФ ( $p < 0,001$ ) на 47,6 %, що загалом призвело до підвищення енергетичного заряду ( $p < 0,001$ ) на 35,1 % (рис. 4) відносно показників щурів, підданих ВІС без корекції (контрольна група).

## Висновки

1. До числа патобіохімічних змін у СОШ у результаті стрес-індукованого ерозивно-виразкового ушкодження слизової оболонки належать активація ПОЛ та дисбаланс енергетичного обміну, на що вказувало статистично вірогідне ( $p < 0,001$ ) зниження АПІ на 77,5 % та енергетичного заряду — на 28,9 % відносно показників інтактних тварин.

2. Профілактичне п'ятиденне введення КЕП призводить до відновлення балансу в системі аденілових нуклеотидів та відповідно до статистично вірогідного ( $p < 0,001$ ) зростання енергетичного заряду на 35,1 % відносно показників тварин контрольної групи.

3. Пригнічення стрес-індукованої гіперактивації ПОЛ у СОШ виступає одним із механізмів його гастропротективної активності. Встановлено, що введення КЕП призвело до статистично вірогідного ( $p < 0,001$ ) зростання АПІ в 3,1 раза відносно показників контрольної групи, що становив  $26,60 \pm 0,96$  та  $8,60 \pm 0,43$  відповідно.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані результати біохімічних досліджень гомогенатів слизової оболонки шлунка вказують на доцільність проведення подальшого вивчення механізмів гастропротективної активності кріоконсервованого екстракту плаценти на інших моделях виразкової хвороби.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

**Інформація про фінансування.** Фінансування видатками Державного бюджету України. Роботу виконано в рамках відомчої науково-дослідної роботи відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України «Особливості перебігу деструктивно-запальних та репаративних процесів під впливом низьких температур та кріоекстрактів органів ссавців» (термін виконання: 2022–2026 рр., керівник — в.о. завідувача відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України, к.м.н., старший дослідник Чиж М.О.).

**Внесок авторів.** Кошурба І.В. — ідея роботи, розробка концепції дослідження, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, аналіз та узагальнення даних, написання тексту рукопису; Гладких Ф.В. — участь в розробці дизайну дослідження та аналізі отриманих результатів, редагування тексту рукопису; Чиж М.О. — загальне керівництво роботою, формулювання мети роботи, редагування тексту рукопису.

## References

1. Kizlova NM, Komar OM, Trylevych OD. Features of morbidity and prevalence of a peptic ulcer of stomach and duodenum among the population with the analysis of the main indicators of the provided medical aid in Vinnytsia region and Ukraine. Reports of Vinnytsia National Medical University. 2017;21(2):524-529. (in Ukrainian).
2. Iskra IuA, Bilyaev AV. Frequency of stress ulcers and their dependence on the acidity of gastric contents in the perioperative period in children. Ukrainian Scientific Medical Youth Journal. 2017;1(99):31-36. (in Ukrainian).
3. Bereda G. Peptic Ulcer Disease: Definition, Pathophysiology, and Treatment. J Biomed Biol Sci. 2022,1(2):1-10.
4. Pandey A, Saraswat N, Wal P, Pal RS, Wal A, Maurya DM. A detailed review on: recent advances, pathophysiological studies and mechanism of peptic ulcer. Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics. 2019;11(4):165-170. doi:10.5958/2321-5836.2019.00029.6.
5. Morgaienko OO, Maidanyuk AV, Dvorshchenko CO. Adenine nucleotides in rats' gastric tissues and blood plasma under stress-induced lesions of gastric mucosa. Problems of ecological and medical genetics and clinical immunology. 2012;(113):317-326. (in Ukrainian).
6. Shell EJ. Pathophysiology of peptic ulcer disease. Physician Assistant Clinics. 2021;6(4):603-611. doi:10.1016/j.cpha.2021.05.005.
7. Danylyak O, Marinets SA, Zayachkivska O. The evolution of stress conception: from Hans Selye to modern achievements. Proc Shevchenko Sci Soc Med Sci. 2016;45(28):27-40. (in Ukrainian).
8. Yakovleva LV, Chikitkina VV. Correction of lipid peroxidation processes and functional state of the antioxidant system with Propolitin capsules in the conditions of experimental gastric ulcer. Medical Chemistry. 2003;5(1):23-27. (in Russian).
9. Hladkykh FV. Antiulcer activity of placental cryoextract in experimental indomethacin-induced ulcerogenesis. Acta Medica Leopoliensia. 2021;27(3-4):68-83. doi:10.25040/aml2021.3-4.068. (in Ukrainian).
10. Hladkykh FV. Gastrocytoprotective properties of cryopreserved placenta extract in combined action of low temperatures and inhibition of cyclooxygenase. Acta Facultatis Medicae Naissensis. 2022;39(1):48-56. doi:10.5937/afmna39-33036.
11. Hladkykh FV, Chyzh MO. Correction of ulcerogenic action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs by using of cryopreserved placenta extract. In: Mohammed VOS, Nesterovska R, Serhiyenko V, et al. Modern medicine and pharmacology, innovations and perspectives: collective monograph. Boston: Primedia eLaunch; 2021. 117-121 pp. doi:10.46299/ISG.2021.MONO.MED.III.
12. Pan SY, Chan MKS, Wong MBF, Klokol D, Chernykh V. Placental therapy: An insight to their biological and therapeutic properties. Journal of Medicine and Therapeutics. 2017;1(3):1-6. doi:10.15761/jmt.1000118.
13. Hladkykh FV, Chyzh MO. Modulation of meloxicam-induced changes in gastrointestinal and motor activity of the stomach by applying placenta cryoextract. Proc Shevchenko Sci Soc Med Sci. 2021;61(1):84-94. doi:10.25040/ntsh2021.01.08. (in Ukrainian).
14. Pogozhykh O, Prokopyuk V, Figueiredo C, Pogozhykh D. Placenta and placental derivatives in regenerative therapies: experimental studies, history, and prospects. Stem Cells International. 2018;2018:1-14. doi:10.1155/2018/4837930.
15. Stefanov OV, Buhtiarova TA, Solov'ov AI, et al., authors; Stefanov OV, editor. Doklinichni doslidzhennja likars'kyh zasobiv: metodychni rekomendacii' [Preclinical studies of drugs: guidelines]. Kyiv: Avicenna; 2001. 527 p. (in Ukrainian).
16. Xie W, Huang X, Chen R, et al. Esomeprazole alleviates the damage to stress ulcer in rats through not only its antisecretory effect but

its antioxidant effect by inactivating the p38 MAPK and NF- $\kappa$ B signaling pathways. *Drug Des Devel Ther.* 2019 Aug 22;13:2969–2984. doi:10.2147/DDDT.S193641.

17. Takagi KY, Kayuya Y, Watanabe K. Studies on the drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1964 Apr;12:465–472. doi:10.1248/cpb.12.465.

18. Kamyshnikov VS. *Spravochnik po kliniko-biokhimičeskim issledovaniim i laboratornoi diagnostike [Handbook of clinical and biochemical research and laboratory diagnostics]*. 3rd ed. Moscow: MEDpress-inform; 2009. 896 p. (in Russian).

19. Atkinson DE. Citrate and the citrate cycle in the regulation of

energy metabolism. *Biochem Soc Symp.* 1968;27:23–40.

20. Zar JH. *Biostatistical analysis*. 5th ed. New Jersey: Prentice-Hall/Pearson; 2014. 960 p.

21. Gadiliya OP, Timoshenko MO, Dvorschenko KO, Ostapchenko LI, Vereshaka VV. Effects of 2-(2-hydroxyphenoxy) acetyl-L-prolinat sodium on antioxidant defense system of the gastric mucosa of rats under conditions of stress action. *Physiol J.* 2014;60(3):60–66. (in Ukrainian).

Отримано/Received 26.07.2022

Рецензовано/Revised 10.08.2022

Прийнято до друку/Accepted 15.08.2022 ■

#### Information about authors

Koshurba Illia, Medical Director for Neonatology, Municipal Non-Profit Enterprise “Chernivtsi Regional Perinatal Center”, Chernivtsi, Ukraine; tel.: +38 (095) 417-80-06, e-mail: koshurba@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4595-9245>, <https://publons.com/researcher/4558087/illia-vasylovych-koshurba/>, Researcher ID: ADZ-8470-2022.

Hladkykh Fedir, Doctor of Philosophy (PhD) in Health Care in specialty “Medicine”, Junior Research fellow of the Department of Experimental Cryomedicine, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine; Junior Research fellow Group of Radiation Pathology and Palliative Medicine at the Radiology Department, State Organization “Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kharkiv, Ukraine; tel.: +38 (099) 782-78-72, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>, [www.scopus.com/authorid/detail.uri?authorid=57226085532](https://scopus.com/authorid/detail.uri?authorid=57226085532), <https://publons.com/researcher/2071355/fedir-hladkykh/>, Researcher ID: M-5709-2017.

Chyzh Mykola, PhD, Senior Researcher, Head of the Department of Experimental Cryomedicine, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine; tel.: +38 (066) 427-10-71, e-mail: n.chyzh@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>, <https://www.scopus.com/authorid/detail.uri?authorid=36609804700>, <https://publons.com/researcher/4966220/chyzh-mykola/>, Researcher ID: AAD-7785-2022.

**Conflicts of interests.** Authors declare the absence of any conflicts of interests and own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of the manuscript.

**Funding information.** Funding by expenditures of the State Budget of Ukraine. The work was carried out as part of the departmental research work of the department of experimental cryomedicine of the Institute of Experimental Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine “Peculiarities of the course of destructive-inflammatory and reparative processes under the influence of low temperatures and cryoextracts of mammalian organs” (implementation period: 2022–2026, supervisor — acting head department of experimental cryomedicine of IPC&C of the National Academy of Sciences of Ukraine, Doctor of Medicine, senior researcher Chizh M.O.).

**Contribution of the authors.** Koshurba I.V. — the idea of the work, development of the research concept, conducting experimental studies, statistical processing of the obtained results, analysis and generalization of data, writing the text of the manuscript; Hladkykh F.V. — participation in the development of the research design and analysis of the obtained results, editing of the manuscript text; Chyzh M.O. — general management of the work, formulation of the purpose of the work, editing of the manuscript text.

I.V. Koshurba<sup>1</sup>, F.V. Hladkykh<sup>2,3</sup>, M.O. Chyzh<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Municipal Non-Profit Enterprise “Chernivtsi Regional Perinatal Center”, Chernivtsi, Ukraine

<sup>2</sup> Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

<sup>3</sup> State Institution “Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kharkiv, Ukraine

### Modulation of lipid peroxidation and energy metabolism in the gastric mucosa as a mechanism of antiulcer activity of placental cryoextract in the healing of stress-induced ulcers

**Abstract. Background.** Peptic ulcer disease has a leading place in the overall structure of digestive diseases: its prevalence is 6.00–10.0 % of the population in developed countries, and mortality ranges from 6 to 9.7 per 100 thousand population. An important etiological factor of this pathology is the neuropsychological background, primarily stress, which under repeated exposure becomes the initiating factor of physiological imbalance between the elements of aggression and protection of the gastric mucosa. The purpose was to establish the mechanisms of the protective activity of placental cryoextract based on the biochemical indicators of lipid peroxidation and antioxidant protection in the gastric mucosa on a model of stress-induced erosive-ulcerative damage.

**Materials and methods.** Studies were performed on 28 nonlinear laboratory male rats weighing 200–220 g. Stress-induced gastric ulcer was modeled under water-immobilization stress in rats according to the K.Y. Takagi et al. In the gastric mucosa, the content of reactants with thiobarbituric acid was determined spectrophotometrically by the method of T. Asakawa et al., catalase activity — spectrophotometrically by the method of M.A. Korylyuk et al., the content of reduced glutathione — spectrophotometrically by the method of E.D. Beutler et al., the level of adenyly nucleotides was determined using chromatographic method. Energy charge was calculated by D.E. Atkinson equation.

**Results.** The prophylactic five-day use of placental cryoextract led to a decrease in the severity of stress-induced lipid peroxidation and energy imbalance in the gastric mucosa. Thus, it was found that rats who received placental cryoextract had a statistically significant ( $p < 0.001$ ) increase in adenosine triphosphate content by 73.3 %, an increase in adenosine diphosphate ( $p < 0.001$ ) by 37.3 % and a decrease in adenosine monophosphate ( $p < 0.001$ ) by 47.6 % that led to an increase in energy charge ( $p < 0.001$ ) by 35.1 % compared to rats exposed to water-immobilization stress without correction (control group). It was shown that the use of placental cryoextract led to a statistically significant ( $p < 0.001$ ) increase in the antioxidant-prooxidant index by 3.1 times versus control group, which was  $(26.60 \pm 0.96)$  and  $(8.60 \pm 0.43)$ , respectively. **Conclusions.** Prophylactic five-day administration of placental cryoextract leads to the restoration of balance in the system of adenyly nucleotides and, accordingly, to a statistically significant ( $p < 0.001$ ) increase in the energy charge by 35.1 % compared to the control animals. Inhibition of stress-induced hyperactivation of lipid peroxidation in the gastric mucosa is one of the mechanisms of its antiulcer activity.

**Keywords:** peptic ulcer disease; cryopreserved placenta extract; water-immobilization stress; antiulcer activity; energy charge; lipid peroxidation