

УДК 591.147+615.361:615.451.1:618.46+616.3+577.18

DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.57.2.2023.535>

Кошурба І.В.^{1,2} , Гладких Ф.В.^{1,3} , Чиж М.О.¹ 

¹ Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, м. Харків, Україна

² Комунальне некомерційне підприємство «Чернівецький обласний перинатальний центр», м. Чернівці, Україна

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

Вплив гормонального статусу на гепатотропну дію езомепразолу, кларитроміцину та метронідазолу при хронічному ураженні печінки і введенні кріоекстракту плаценти

For citation: Gastroenterologia. 2023;57(2):78-84. doi: 10.22141/2308-2097.57.2.2023.535

Резюме. Актуальність. Хвороби печінки посідають важливе місце в структурі гастроентерологічної патології та залишаються важливою медико-соціальною проблемою в усьому світі. Майже половина пацієнтів із захворюваннями гепатобіліарної системи мають поліморбідний статус або високий ризик розвитку супутньої патології. Одним з варіантів поєднаної патології в клініці гастроентерології є виразкова хвороба на тлі печінкових порушень. Як потенційно противиразковий біотехнологічний засіб з гепатопротекторною дією створено вітчизняний препарат кріоцел — кріоекстракт плаценти. **Мета:** визначити гендерні аспекти гепатотропної дії кріоекстракту плаценти при тетрахлорметановому гепатиті з фоновим етанол-індукованим цирозом та ураженні печінки противиразковими засобами. **Матеріали та методи.** Гепатотропні ефекти вивчали за умови різного вмісту статевих гормонів на 112 самцях і самицях щурів масою 200–220 г, поділених на 4 групи по 28 тварин кожна. Тетрахлорметановий гепатит з фоновим етанол-індукованим цирозом печінки відтворювали шляхом введення олійного розчину тетрахлорметану в комбінації з 5,0% розчином етанолу впродовж 45 днів. Модуляції вмісту статевих гормонів досягали хірургічною оварі- або тастектомією. Активність γ -глутамілтранспептидази визначали спектрофотометричним методом за G. Szasz. **Результати.** Уведення езомепразолу, кларитроміцину й метронідазолу при хронічному ураженні печінки у тварин супроводжувалось посиленням цитолітичного синдрому, активність якого найбільше відзначалась у самиць щурів без зміни гормонального статусу, рівень γ -глутамілтранспептидази у яких становив $(13,90 \pm 1,34)$ од/л. Застосування кріоекстракту плаценти чинило виражену антицитолітичну дію в самиць щурів зі змодельованим ураженням печінки і введенням противиразкових препаратів без зміни гормонального статусу, на що вказувала статистично вірогідно ($p < 0,01$) нижча на 34,5 % активність γ -глутамілтранспептидази в гомогенатах печінки. Уведення кріоекстракту плаценти самицям щурів зі змодельованим ураженням печінки і введенням противиразкових препаратів після оваріектомії викликало статистично вірогідне ($p < 0,01$) зниження рівня γ -глутамілтранспептидази в гомогенатах печінки на 45,8 % відносно показників самиць, яким не вводили досліджуваний кріоекстракт. **Висновки.** Уведення кріоекстракту плаценти викликає ослаблення цитолітичних процесів у тварин зі змодельованим тетрахлорметан-індукованим гепатитом і фоновим етанол-індукованим цирозом печінки, яким вводили езомепразол, кларитроміцин і метронідазол як засоби потрібної противиразкової терапії.

Ключові слова: кріоконсервований екстракт плаценти; противиразкові засоби; медикаментозне ураження печінки; тетрахлорметановий гепатит; цитоліз



© 2023. 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, б. 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; phone: + 38 (095) 417-80-06

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

Вступ

Хвороби печінки посідають важливе місце в структурі гастроентерологічної патології та залишаються важливою медико-соціальною проблемою в усьому світі. Так, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), у світі налічується понад 2 млрд пацієнтів з діагностованими захворюваннями печінки, що в 100 разів перевищує поширеність вірусу імунодефіциту людини. За оцінкою ВООЗ, тільки на вірусний гепатит В або С у хронічній формі хворіють 325 млн осіб у світі, а загальна смертність пацієнтів з такими захворюваннями за останні 20 років зростає майже вдвічі [1–3]. За даними літератури, майже половина пацієнтів з маніфестуючими порушеннями гепатобіліарної системи мають поліморбідний статус або високий ризик розвитку супутньої патології. Одним з варіантів поєднаної патології у клініці гастроентерології є виразкова хвороба (ВХ) на тлі печінкових порушень [4–6].

Сучасні стратегії фармакотерапії ВХ урегульовані положеннями шостого Маастрихтського консенсусу (2022 р.) і передбачають застосування препаратів вісму, інгібіторів протонної помпи та комбінації 2–3 антибактеріальних препаратів (амоксцилін, кларитроміцин, метронідазол, тетрациклін, левофлоксацин, рифабутин або фуразолідон) [7, 8]. Особливу загрозу становить проведення комбінованої противиразкової терапії у хворих на тлі супутнього гепатиту або цирозу печінки, адже майже всі лікарські засоби підлягають біотрансформації в печінці, а особливу небезпеку становлять препарати з власне гепатотоксичною дією [9, 10, 12]. Токсичну дію метаболітів лікарських засобів можна викласти в наступній послідовності: I фаза — метаболізм препарату, II фаза — біотрансформація його метаболітів і III фаза — екскреція продуктів біотрансформації із жовчю і сечею [7, 13, 14]. За даними дослідників [11], на сьогодні ідентифіковані гени, індукційні щодо дії статевих гормонів, які кодуєть ферменти із сімейства цитохромів (СYP), що є підґрунтям гендерної детермінації гепатотоксичної дії лікарських засобів та інших ксенобіотиків.

Стать пацієнта є важливим фактором багатьох хронічних захворювань, включно з хворобами печінки, оскільки вона є органом-мішенню для статевих гормонів, адже її клітини експресують рецептори естрогену (ER α , ER β , G-білковий ER, андрогенний рецептор тощо). Відмінності в рівнях статевих гормонів та експресії генів їх рецепторів є однією з основних причин виникнення захворювань печінки [15–17]. Так, гепатоцелюлярна карцинома частіше зустрічається в чоловіків, у той час як жінки мають підвищений ризик автоімунного захворювання печінки та більш гострі симптоми печінкової недостатності при алкогольній хворобі печінки. При неалкогольній жировій хворобі печінки ця різниця менш виражена, але припускають підвищення частоти серед чоловіків і жінок у постменопаузі, імовірно, через підвищену тенденцію до накопичення вісцерального жиру [16, 18–20]. За даними багатофакторного аналізу в когорті з понад 20 тис. пацієнтів показано, що жіноча стать при цирозі фактично пов'язана з нижчим ризиком смерті від усіх причин і не пов'язана зі смертю у зв'язку з печінкою.

Варто зазначити, що андрогени мають великий вплив на ліпідний обмін у печінці жінок. Так, за даними дослідження [17], чоловіки й жінки в постменопаузі мають більш високу концентрацію ліпопротеїдів низької щільності та нижчу концентрацію ліпопротеїдів високої щільності в крові порівняно з жінками в пременопаузі, тому естрогени можуть відігравати важливу роль у зменшенні накопичення жиру в печінці, що узгоджується з даними рандомізованих досліджень щодо вищої поширеності неалкогольної хвороби печінки в чоловіків [15, 19, 20].

Актуальним питанням на сьогодні залишається пошук шляхів оптимізації сучасних схем лікування ВХ у коморбідних пацієнтів з урахуванням їх гендерної приналежності, адже відомо, що як андро-, так і естрогени, окрім статевого диференціювання, здатні чинити регулюючий вплив на метаболізм організму в цілому, зокрема впливати на фармакокінетику, фармакодинаміку й потенціуючу дію поєднаного застосування лікарських засобів [7, 14].

На сьогодні, за даними Державного реєстру лікарських засобів України, на фармацевтичному ринку зареєстровано понад 100 препаратів з гепатопротекторною активністю, проте жоден з них не може задовольнити потреби клініцистів повною мірою. Нашу увагу як потенційний противиразковий біотехнологічний засіб з гепатозахисною дією привернув вітчизняний препарат кріоцел — кріоекстракт плаценти (КЕП). Кріоекстракт плаценти отримано науковцями Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (далі — ІПКіК НАН України) [21–23]. У попередніх дослідженнях нами було встановлено, що лікувально-профілактичне введення КЕП нормалізувало метаболічні процеси в печінці й відновлювало її функціональний стан за рахунок антиоксидантного й мембраностабілізуючого ефектів, які ослаблювали обумовлений введенням D-галактозаміну цитолітичний синдром і відновлювали білковосинтезуючу функцію печінки [24, 25]. Крім того, показано, що КЕП чинить енергостабілізуючу дію на гепатоцити щурів зі змодельованим тетрахлорметановим (CCl $_4$) ураженням печінки [26, 27].

Мета дослідження: визначити гендерні аспекти гепатотропної дії кріоекстракту плаценти при тетрахлорметановому гепатиті з фоновим етанол-індукованим цирозом та ураженням печінки противиразковими засобами.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на нелінійних лабораторних щурах на базі відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України та навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича Міністерства освіти і науки України. Тварин утримували в умовах віварію. До початку експерименту щури впродовж 14 діб перебували в умовах карантину (Наказ МОЗ УРСР № 755 від 12.08.1977 «Структура та утримання експериментальних біологічних клінік»; СТ-Н МОЗ України 42-6.0:2008 «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика»), після чого проводилась рандомізація на групи по 7 особин у кожній з подальшим утриманням в умовах стандартного водно-харчового раціону (Наказ МОЗ СРСР № 163 від 10.03.1966 «Про добові норми

годування лабораторних тварин та продуцентів» та доповнення від 04.12.1978) з вільним доступом (*ad libitum*) до води та їжі. У всіх серіях дослідження тваринам у групах наносили індивідуальні мітки. Упродовж всього експерименту контролювали масу тіла, оцінювали зовнішній вигляд і загальний стан тварин (поведінкові реакції, рефлексії, зокрема харчовий).

Для уникнення впливу на експеримент добового ритму біологічної активності досліди виконували завжди в першій половині дня з 08:00 до 11:00. У разі загибелі тварин піддавали розтину і проводили макроскопічний аналіз органів черевної порожнини з метою встановлення того, що летальний кінець тварини не був обумовлений маніпуляційними помилками, а також для визначення вірогідної причини загибелі.

Гепатотропні ефекти КЕП і трикомпонентної противиразкової терапії вивчали за умови різного вмісту статевих гормонів на 112 самцях і самицях щурів масою 200–220 г, розбитих на **4 групи** по 28 тварин кожна: **група I (самці)** та **група III (самиці)** — щури зі змодельованим CCl_4 -індукованим гепатитом з фоновим етанол-індукованим цирозом печінки, яким щоденно нарізно впродовж 7 днів внутрішньошлунково (в/ш) вводили езомепразол (50 мг/кг), кларитроміцин (91 мг/кг) і метронідазол (91 мг/кг) (далі — Е/К/М) [28, 29]; **група II (самці)** та **група IV (самиці)** — щури зі змодельованим CCl_4 -індукованим гепатитом з фоновим етанол-індукованим цирозом печінки, яким щоденно нарізно впродовж 7 днів в/ш вводили Е/К/М за аналогічною схемою і з 3 по 7 день введення (рис. 1) противиразкових засобів (5 введень) вводили КЕП (0,16 мг/кг внутрішньом'язово (в/м)).

Кожна група мала **4 підгрупи** з різним гормональним статусом по 7 тварин кожна: **підгрупа А** — хибнооперовані щури обох статей, яким проводили замісну гормонотерапію (надлишкову); **підгрупа Б** — хибнооперовані щури обох статей без зміни гормонального статусу (група порівняння); **підгрупа В** — щури обох статей, яким ви-

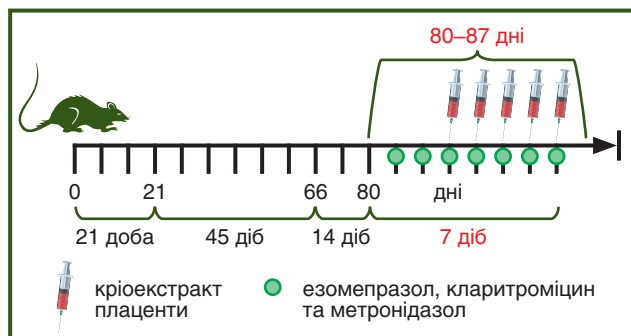
конано тестектомію або оваріектомію; **підгрупа Г** — щури обох статей, яким після гонадектомії проведено замісну гормонотерапію. Тварин виводили з експерименту через 24 год після останнього введення КЕП шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним наркозом.

Моделювання експериментальної патології. *Хронічний CCl_4 -індукований гепатит з фоновим етанол-індукованим цирозом печінки* (далі — ЕТХМ) відтворювали шляхом в/ш введення 50,0% олійного розчину CCl_4 у дозі 8 мл/кг маси тіла тварини двічі на тиждень у комбінації з 5,0% розчином етанолу для пиття впродовж 45 днів (рис. 1) [30].

Модуляції вмісту статевих гормонів досягали хірургічною оварі- або тестектомією в самиць і самців щурів відповідно до загальноприйнятих методик [31, 32]. Дослідження проводились через 21 день після гонадектомії [33, 34]. Некастрованим тваринам груп порівняння виконували розтин передньої черевної стінки й ушивання рани (хибнооперовані тварини). Замісну й надлишкову гормонотерапію проводили впродовж 14 днів у самців підшкірним (п/ш) введенням тестостерону пропіонат у дозі 1 мг/кг 1 р/д, а в самиць — в/ш введенням естрадіолу гемігідрату в дозі 150 мг/кг [33, 34]. КЕП отримано у ДП «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН України, Національної академії медичних наук та МОЗ України» у вигляді ампулованого препарату кріоцел — кріоекстракт плаценти.

Біохімічні методики дослідження. Для отримання гомогенату печінку перфузували ізотонічним розчином і гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі буферного розчину при співвідношенні 1 : 10 (маса/об'єм: наважка 250 мг + 2,25 мл 1,15% розчину), отримуючи 10,0% гомогенат. Активність γ -глутаміл-транспептидази (ГГТП) визначали спектрофотометричним методом, який ґрунтується на тому, що під дією ГГТП глутаміновий залишок з γ -L-(+)-глутаміл-4-нітроаніліду переходить на дипептидний акцептор — гліцилгліцин. При цьому вилучається хромоген-п-нітроанілін. Оптичну щільність реакційного розчину вимірюють при довжині хвилі $\lambda = 405$ (400–430) нм після гальмування enzymатичної реакції ацетатною кислотою [35–37].

Біоетичні аспекти дослідження. Усі експериментальні дослідження над лабораторними тваринами виконано з урахуванням вимог 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 використовуються 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». Комплексну програму досліджень роз-



Примітки: нульовий день експерименту — гонадектомія в щурів; 45 діб (21–66 дні) — моделювання тетрахлорметанового гепатиту з фоновим етанол-індукованим цирозом печінки в щурів; 14 діб (66–80 дні) — замісна/надлишкова гормонотерапія; 7 діб (80–87 дні) — введення противиразкових засобів і КЕП (83–87 дні).

Рисунок 1 — Дизайн дослідження гепатотропної дії кріоекстракту плаценти при тетрахлорметановому гепатиті з фоновим етанол-індукованим цирозом та ураженням печінки противиразковими засобами

глянуто й погоджено Комітетом з біоетики при ІПКіК НАН України (витяг з протоколу № 2 від 3 січня 2022 р.; витяг з протоколу № 5 від 22 листопада 2022 р.).

Статистична обробка результатів. Оцінку характеру розподілу величин у кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням тесту *Shapiro-Wilk*. Однорідність дисперсій визначали за тестом *Levene's*. При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Стьюдента і шляхом дисперсійного аналізу (ANOVA) з використанням параметричного F-критерію Фішера:

$$F = \frac{MS_R}{MS_{ocm}} = \frac{\Sigma(\hat{y} - \bar{y})^2 / I}{\Sigma(y - \hat{y})^2 / (n - 2)}$$

При ненормальному розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали попарно за непараметричним ранговим критерієм *Mann-Whitney* і шляхом рангового дисперсійного аналізу за *Kruskal-Wallis*.

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, і 95% довірчого інтервалу (95% ДІ): 5–95 %. При ненормальному розподілі отриманих величин дані наведено у вигляді Me [LQ; UQ], де Me — медіана, [LQ; UQ] — верхня межа нижнього квартиля і нижня межа верхнього квартиля [38].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. 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 М.О. Чиж).

Результати та обговорення

Дослідження активності ГГТП у гомогенатах печінки шурів показало, що розвиток ЕТХМ і введення К/Е/М супроводжувались формуванням цитолітичного синдрому, на що вказувало зростання рівня зазначеного ензиму від $(7,10 \pm 0,51)$ од/л у самців до $(13,90 \pm 1,34)$ од/л у самиць, що узгоджувалось із даними літератури про більшу вразливість гепатобілярної системи щодо гепатотоксичної дії ксенобіотиків саме у хворих жіночої статі [1, 3]. Як відомо, ГГТП — переважно мембранозв'язаний глікопротеїн, який каталізує перенесення амінокислот через мембрану, регулює розпад і кон'югацію глутатіону. Цей фермент зустрічається в більшості тканин ссавців, проте є специфічним саме для печінкової тканини. За даними літератури, активність ГГТП підвищується при гострому й токсичному гепатитах і виступає високочутливим індикатором руйнування клітин печінки [35].

У шурів-самців надлишкова гормонотерапія тестостерону пропіонатом, як і кастрація з подальшою замісною гормонотерапією, не викликала суттєвих змін в інтенсивності процесів цитолізу в тканинах печінки (табл. 1). У той же час проведення тестектомії в шурів-

Таблиця 1 — Вплив КЕП і Е/К/М на вміст ГГТП у гомогенатах печінки на тлі хронічного етанол-тетрахлорметанового ураження печінки в самців і самиць шурів, од/л ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n = 112$)

Гормональний статус	Підгрупа	Самці			Самиці				
		I група		II група		III група		IV група	
		ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М		ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М	
		7		7		7		7	
Без зміни гормонального статусу	А	$10,30 \pm 1,36$ (95% ДІ 7,6–12,9)		$7,10 \pm 0,51$ (95% ДІ 6,1–8,1)		$13,90 \pm 1,34$ (95% ДІ 11,2–16,5)		$9,10 \pm 0,55$ (95% ДІ 8,1–10,2)	
				$p_{1-2} = 0,05$		$p_{1-3} = 0,09$ $p_{2-3} < 0,001$		$p_{1-4} = 0,45$ $p_{2-4} = 0,02$ $p_{3-4} < 0,01$	
Гормонотерапія	Б	10,0 [8,5; 12,5]		8,0 [7,0; 9,5]		8,0 [8,0; 11,0]		9,0 [6,5; 10,5]	
		$p_{A-B} = 0,35$		$p_{A-B} = 0,17$	$p_{1-2} = 0,06$	$p_{A-B} = 0,02$	$p_{1-3} = 0,19$ $p_{2-3} = 0,24$	$p_{A-B} = 0,42$	$p_{1-4} = 0,19$ $p_{2-4} = 0,37$ $p_{3-4} = 0,40$
Гонадектомія із замісною гормонотерапією	В	$9,00 \pm 1,31$ (95% ДІ: 6,4–11,6)		$6,10 \pm 0,80$ (95% ДІ 4,6–7,7)		$14,90 \pm 2,29$ (95% ДІ 10,4–19,4)		$11,30 \pm 1,63$ (95% ДІ 8,1–14,5)	
		$p_{A-B} = 0,26$ $p_{B-B} = 0,11$		$p_{A-B} = 0,11$ $p_{B-B} < 0,05$	$p_{1-2} = 0,09$	$p_{A-B} = 0,40$ $p_{B-B} = 0,04$	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,01$	$p_{A-B} = 0,11$ $p_{B-B} = 0,11$	$p_{1-4} = 0,30$ $p_{2-4} = 0,02$ $p_{3-4} = 0,23$
Гонадектомія	Г	$7,90 \pm 1,01$ (95% ДІ 5,9–9,8)		$6,40 \pm 1,15$ (95% ДІ 4,2–8,7)		$17,90 \pm 1,56$ (95% ДІ 14,8–20,9)		$9,70 \pm 1,41$ (95% ДІ 7,0–12,5)	
		$p_{A-\Gamma} = 0,11$ $p_{B-\Gamma} = 0,06$ $p_{B-\Gamma} = 0,30$		$p_{A-\Gamma} = 0,15$ $p_{B-\Gamma} = 0,07$ $p_{B-\Gamma} = 0,45$	$p_{1-2} = 0,37$	$p_{A-\Gamma} = 0,04$ $p_{B-\Gamma} < 0,01$ $p_{B-\Gamma} = 0,20$	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{A-\Gamma} = 0,30$ $p_{B-\Gamma} = 0,24$ $p_{B-\Gamma} = 0,28$	$p_{1-4} = 0,31$ $p_{2-4} = 0,10$ $p_{3-4} < 0,01$

Примітки: індексами $_{1,2,3,4}$ вказано номер групи залежно від досліджуваних препаратів, між показниками яких проведено порівняння; індексами $_{A,B,B,\Gamma}$ вказано номер підгрупи залежно від гормонального статусу, між показниками яких проведено порівняння; p — рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

самців без замісної гормонотерапії приводило до зниження активності ГГТП у гомогенатах печінки ($p = 0,1$) на 23,3 % відносно показників тварин без зміни гормонального статусу, що становила відповідно $(7,90 \pm 1,01)$ (95% ДІ 5,9–9,8) од/л.

Аналіз активності цитолітичних процесів у щурів-самців з ЕТХМ і введенням Е/К/М на тлі застосування КЕП показав, що доповнення лікування вказаним кріоекстрактом привело до зниження ($p = 0,09$) на 20,0 % активності ГГТП у гомогенатах печінки і групі тварин, яким надлишково вводили тестостерону пропіонат (група II). У кастрованих же самців введення КЕП супроводжувалось зниженням активності досліджуваного маркера цитолізу на 9,9 % ($p = 0,3$).

Оцінка інтенсивності цитолізу гепатоцитів у самиць показала, що у тварин, яким вводили КЕП, рівень ГГТП у гомогенатах печінки статистично вірогідно ($p < 0,01$) був нижчим на 34,5 % відносно показників тварин з ЕТХМ, яким вводили тільки Е/К/М, і становив відповідно $(9,10 \pm 0,55)$ (95% ДІ 8,1–10,2) од/л (табл. 1). Надлишкове введення самицям естрадіолу гемігідрату чинило виражену антицитолітичну дію на гепатоцити, на що вказувало статистично вірогідне ($p = 0,02$) зниження активності ГГТП на 42,4 % відносно показників самиць без зміни гормонального статусу, відповідно вона становила 8,0 [8,0; 11,0] од/л (табл. 1). Наявність антицитолітичного впливу в естрадіолу гемігідрату підтверджувалась підвищенням рівня ГГТП у гомогенатах печінки самиць з ЕТХМ після оваріектомії на тлі введення Е/К/М у 2,2 рази відносно показників самиць при надлишковому введенні естрадіолу гемігідрату — 17,8 і 8,0 од/л відповідно (табл. 1).

Введення КЕП самицям щурів з ЕТХМ після оваріектомії на тлі введення Е/К/М викликало статистично вірогідне ($p < 0,01$) зниження інтенсивності цитолітичних процесів, на що вказувало зниження рівня ГГТП у гомогенатах печінки на 45,8 % відносно показників самиць, яким не вводили досліджуваний кріоекстракт. Наявність антицитолітичної активності у КЕП узгоджується з аналогічною активністю у естрадіолу гемігідрату, оскільки фрагменти вказаного гормону входять до складу досліджуваного кріоекстракту і є одними з його фізіологічно активних складових. Крім того, встановлені зміни можна пов'язати зі здатністю КЕП нормалізувати гормональний статус у самиць щурів.

Висновки

1. Введення езомепразолу, кларитроміцину і метронідазолу при хронічному ураженні печінки у тварин супроводжувалось посиленням цитолітичного синдрому, активність якого найбільше відзначалась у самиць щурів без зміни гормонального статусу, рівень ГГТП у яких становив $(13,90 \pm 1,34)$ од/л.

2. Застосування кріоекстракту плаценти чинить виражену антицитолітичну дію в самиць щурів зі змодельованим ураженням печінки і введенням протівіразкових препаратів без зміни гормонального статусу, на що вказувала статистично вірогідно ($p < 0,01$) нижча на 34,5 % активність ГГТП у гомогенатах печінки.

3. Введення КЕП самицям щурів зі змодельованим ураженням печінки і введенням протівіразкових препаратів після оваріектомії викликало статистично вірогідне ($p < 0,01$) зниження рівня ГГТП у гомогенатах печінки на 45,8 % відносно показників самиць, яким не вводили досліджуваний кріоекстракт.

Перспективи подальших досліджень. Отримані дані про антицитолітичну активність кріоекстракту плаценти є підґрунтям для проведення поглиблених досліджень інших механізмів гепатопротекторної активності зазначеного кріоекстракту.

Конфлікт інтересів. Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

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 М.О. Чиж).

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 у розробці дизайну дослідження та аналізі отриманих результатів, редагування тексту рукопису; Чиж М.О. — загальне керівництво роботою, формулювання мети роботи, редагування тексту рукопису.

References

1. Moon AM, Singal AG, Tapper EB. Contemporary Epidemiology of Chronic Liver Disease and Cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020 Nov;18(12):2650–2666. doi:10.1016/j.cgh.2019.07.060.
2. Hirode G, Saab S, Wong RJ. Trends in the Burden of Chronic Liver Disease Among Hospitalized US Adults. *JAMA Netw Open.* 2020 Apr 1;3(4):e201997. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.1997.
3. Peery AF, Crockett SD, Murphy CC, et al. Burden and Cost of Gastrointestinal, Liver, and Pancreatic Diseases in the United States: Update 2018. *Gastroenterology.* 2019 Jan;156(1):254–272.e11. doi:10.1053/j.gastro.2018.08.063.
4. Fadjejenko GD, Nikiforova JaV. Prevention of progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Zdorov'ja Ukraїny. Gastroenterologija, gepatologija, koloproktologija.* 2016;(40):51–53. (in Ukrainian).
5. Osyodlo H, Boichak M, Fedorova O. Rational choice of hepatoprotectors for drug-induced liver injury. *Gastroenterologija.* 2022;56(3):179–189. doi:10.22141/2308-2097.56.3.2022.507.
6. Farooq MO, Bataller R. Pathogenesis and management of alcoholic liver disease. *Dig Dis.* 2016;34(4):347–355. doi:10.1159/000444545.

7. Bereda G. Peptic Ulcer Disease: Definition, Pathophysiology, and Treatment. *J Biomed Biol Sci.* 2022;1(2):1-10.
8. Malfertheiner P, Megraud F, Rokkas T, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht VI/Florence consensus report. *Gut.* 2022 Aug 8;gutjnl-2022-327745. doi:10.1136/gutjnl-2022-327745.
9. Prysyazhnyuk V, Voloshyn O. Clinical-pathogenetic, age, gender, genetic aspects of non-alcoholic fatty liver disease and nonviral chronic hepatitis without, and also with comorbid hypothyroidism; improving of their treatment. *Lviv Clinical Bulletin.* 2018;(23):8-23. doi:10.25040/lkv2018.03.008. (in Ukrainian).
10. Liu Y, Santillo MF, Flynn TJ, Ferguson MS. Sex hormone modulation of both induction and inhibition of CYP1A by genistein in HepG2/C3A cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2015 Apr;51(4):426-431. doi:10.1007/s11626-014-9848-9.
11. Flynn TJ, Ferguson MS. An in vitro system for studying potential biological mechanisms of human sex differences in susceptibility to acute liver injury. *Toxicol Lett.* 2010 Oct 5;198(2):232-236. doi:10.1016/j.toxlet.2010.07.003.
12. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ.* 2005 Feb 1;172(3):367-379. doi:10.1503/cmaj.1040752.
13. Brown BA, Wallace RJ Jr, Griffith DE, Girard W. Clarithromycin-induced hepatotoxicity. *Clin Infect Dis.* 1995 Apr;20(4):1073-1074. doi:10.1093/clinids/20.4.1073.
14. Almazroo OA, Miah MK, Venkataramanan R. Drug metabolism in the liver. *Clin Liver Dis.* 2017 Feb;21(1):1-20. doi:10.1016/j.cld.2016.08.001.
15. Kur P, Kolasa-Woźniak A, Misiakiewicz-Has K, Wiszniewska B. Sex Hormone-Dependent Physiology and Diseases of Liver. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Apr 11;17(8):2620. doi:10.3390/ijerph17082620.
16. Mazumder NR, Celaj S, Atiemo K, et al. Liver-related mortality is similar among men and women with cirrhosis. *J Hepatol.* 2020 Nov;73(5):1072-1081. doi:10.1016/j.jhep.2020.04.022.
17. Trapani L, Segatto M, Pallottini V. Regulation and deregulation of cholesterol homeostasis: The liver as a metabolic "power station". *World J Hepatol.* 2012 Jun 27;4(6):184-190. doi:10.4254/wjh.v4.i6.184.
18. Martin-Grau M, Monleon D. Sex dimorphism and metabolic profiles in management of metabolic-associated fatty liver disease. *World J Clin Cases.* 2023 Feb 26;11(6):1236-1244. doi:10.12998/wjcc.v11.i6.1236.
19. Cespiati A, Cinque F, Meroni M, Lombardi R, Dongiovanni P, Fracanzani AL. An Overview of Hepatocellular Carcinoma Surveillance Focusing on Non-Cirrhotic NAFLD Patients: A Challenge for Physicians. *Biomedicines.* 2023 Feb 16;11(2):586. doi:10.3390/biomedicines11020586.
20. Song MJ, Choi JY. Androgen dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease: Role of sex hormone binding globulin. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022 Nov 22;13:1053709. doi:10.3389/fendo.2022.1053709.
21. Pan SY, Chan MKS, Wong MBF, Klok 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.
22. Hladkykh FV. Experimental study of the antiulcer effect of cryopreserved placenta extract on a model of acetylsalicylic acid-induced ulcerogenesis. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences.* 2021;35(2):89-94. doi:10.2478/cipms-2022-0017.
23. Hladkykh FV. Gastrocytoprotective properties of cryopreserved placenta extract in combined action of low temperatures and inhibition of cyclooxygenase. *Acta Facultatis Medicinae Naissensis.* 2022;39(1):48-56. doi:10.5937/afmna39-33036.
24. Hladkykh FV. Anti-inflammatory properties of diclofenac sodium on background of its combined use with cryopreserved placenta extract in experiment. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2021;31(4):364-367. doi:10.15407/cryo31.04.364.
25. Koshurba IV, Chyzh MO, Hladkykh FV, Belochkina IV. Influence of placenta cryoextract on the liver metabolic and functional state in Case of D-galactosamine hepatitis. *Innov Biosyst Bioeng.* 2022;6(2):64-67. doi:10.20535/ibb.2022.6.2.264774. (in Ukrainian).
26. Koshurba IV, Hladkykh FV, Chyzh MO, Belochkina IV, Rubleva TV. Hepatotropic effects of triple antiulcer therapy and placenta cryoextract: the role of sex factors in lipoperoxidation. *Fiziol Zh.* 2022;68(5):25-32. doi:10.15407/fz68.05.025. (in Ukrainian).
27. Koshurba IV. Study of the effect of cryopreserved placenta extract on the processes of cytolysis and lipid peroxidation in CCl₄-induced liver damage. *Modern Medical Technology.* 2022;(54):46-54. doi:10.34287/MMT.3(54).2022.9. (in Ukrainian).
28. Vogel HG, editor. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmaceutical Assays.* 3rd ed. Berlin, Heidelberg: Springer; 2008. 2068 p. doi:10.1007/978-3-540-70995-4.
29. Pidgirnyj VV. Hepatotoxic manifestations of lansoprazole, metronidazole and clarithromycin in the experiment. *Medical Chemistry.* 2007;9(2):74-77. (in Ukrainian).
30. Rykalo NA. Experimental model of chronic tetrachloromethane hepatitis and liver cirrhosis in immature rats. *Actual problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Stomatological Academy.* 2009;9(2):116-118. (in Ukrainian).
31. Aloisi AM, Ceccarelli I, Fiorenzani P. Gonadectomy affects hormonal and behavioral responses to repetitive nociceptive stimulation in male rats. *Ann N Y Acad Sci.* 2003 Dec;1007:232-237. doi:10.1196/annals.1286.022.
32. Joshi SA, Shaikh S, Ranpura S, Khole VV. Postnatal development and testosterone dependence of a rat epididymal protein identified by neonatal tolerization. *Reproduction.* 2003 Apr;125(4):495-507. doi:10.1530/rep.0.1250495.
33. Ali BH, Ben Ismail TH, Basir AA. Sex difference in the susceptibility of rats to gentamicin nephrotoxicity: influence of gonadectomy and hormonal replacement therapy. *Indian Journal of Pharmacology.* 2001;33:369-373.
34. Yuzurihara M, Ikarashi Y, Noguchi M, Kase Y, Takeda S, Aburada M. Involvement of calcitonin gene-related peptide in elevation of skin temperature in castrated male rats. *Urology.* 2003 Nov;62(5):947-951. doi:10.1016/s0090-4295(03)00587-9.
35. Kamyshnikov VS. *Spravochnik po kliniko-biokhimičeskim issledovaniyam i laboratornoi diagnostike [Handbook of clinical and biochemical research and laboratory diagnostics].* 3rd ed. Moscow: MEDpress-inform; 2009. 896 p. (in Russian).
36. Szasz G. A kinetic photometric method for serum gamma-glutamyl transpeptidase. *Clin Chem.* 1969 Feb;15(2):124-136.
37. Szasz G. New substrates for measuring gamma-glutamyl transpeptidase activity. *Z Klin Chem Klin Biochem.* 1974 May;12(5):228-233.
38. Zar JH. *Biostatistical analysis.* 5th ed. Englewood, NJ: Pearson Education Limited; 2014. 756 p.

Отримано/Received 02.04.2023

Рецензовано/Revised 12.04.2023

Прийнято до друку/Accepted 20.04.2023

Information about authors

Iliia Koshurba, PhD student at the Department of Experimental Cryomedicine, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine; Medical Director for Neonatology, Municipal Non-Profit Enterprise "Chernivtsi Regional Perinatal Center", Chernivtsi, Ukraine; Assistant of the Department of Pediatrics, Neonatology and Perinatal Medicine, Bukovynian State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Chernivtsi, Ukraine; e-mail: koshurba@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4595-9245>, Scopus: <https://www.scopus.com/author/detail.uri?authorId=57499305600>, Web of Science: <https://www.webofscience.com/wos/author/record/3335102>

Fedir Hladkykh, PhD, 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; e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>, Scopus: www.scopus.com/author/detail.uri?authorId=57226085532, Web of Science: <https://www.webofscience.com/wos/author/record/1507258>

Mykola Chyzh, 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; e-mail: n.chyzh@ukr.net; <https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>, Scopus: <https://www.scopus.com/author/detail.uri?authorId=36609804700>, Web of Science: <https://www.webofscience.com/wos/author/record/2499258>

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.

Information about funding. 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 M.O. Chyzh).

Authors' contribution. *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^{1,2}, F.V. Hladkykh^{1,3}, M.O. Chyzh¹

¹ Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

² Communal Non-Profit Enterprise "Chernivtsi Regional Perinatal Center", Chernivtsi, Ukraine

³ State Institution "Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine

The influence of hormonal status on the hepatotropic effect of esomeprazole, clarithromycin and metronidazole in chronic liver damage and the administration of placenta cryoextract

Abstract. Background. Liver diseases occupy an important place in the structure of gastrointestinal pathology and remain an important medical and social problem throughout the world. Almost half of patients with manifest disorders of the hepatobiliary system have a polymorbid status or a high risk of developing concomitant pathology. One of the variants of the combined pathology in the clinic of gastroenterology is peptic ulcer on the background of liver disorders. As a potential anti-ulcer biotechnological agent with a hepatoprotective effect, cryocell — placenta cryoextract, a domestic drug, attracted attention. The purpose was to determine the gender aspects of the hepatotropic effect of placenta cryoextract in tetrachloromethane hepatitis with background ethanol-induced liver cirrhosis and liver damage by antiulcer agents. **Materials and methods.** Hepatotropic effects were studied at different levels of sex hormones in 112 male and female rats weighing 200–220 g, divided into 4 groups of 28 animals each. Tetrachloromethane hepatitis with background ethanol-induced liver cirrhosis was simulated by administration of an oily solution of tetrachloromethane in combination with a 5.0% ethanol solution for 45 days. Modulation of the content of sex hormones was achieved by surgical ovariectomy or orchietomy. The activity of γ -glutamyl-transpeptidase was determined by the spectrophotometric method according to G. Szasz.

Results. The administration of esomeprazole, clarithromycin and metronidazole in chronic liver damage in animals was accompanied by an increase in the cytolytic syndrome, the activity of which was most significant in female rats without a change in hormonal status whose level of γ -glutamyl-transpeptidase was (13.90 ± 1.34) units/l. The use of placenta cryoextract has a pronounced anticytolytic effect in female rats with simulated liver damage and administration of antiulcer drugs without changing the hormonal status, which was indicated by a statistically significant ($p < 0.01$) 34.5 % lower activity of γ -glutamyl transpeptidase in liver homogenates. Administration of placenta cryoextract to female rats with simulated liver damage and administration of antiulcer drugs after ovariectomy caused a statistically significant ($p < 0.01$) decrease in the level of γ -glutamyl transpeptidase in liver homogenates, by 45.8 % compared to the indicators in females who were not administered the studied cryoextract. **Conclusions.** Administration of placenta cryoextract induces attenuation of cytolytic processes in animals with simulated tetrachloromethane-induced hepatitis on the background of ethanol-induced liver cirrhosis who were administered esomeprazole, clarithromycin, and metronidazole as triple antiulcer therapy. **Keywords:** cryopreserved placenta extract; antiulcer drugs; drug-induced liver damage; tetrachloromethane hepatitis; cytolysis