

Abstract

Fedir. V. Hladkykh^{1,2}

<https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>

Mykola O. Chyzh¹

<https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>

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

²*State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine*

ANTIULCEROGENIC EFFECT OF CRYOPRESERVED PLACENTA EXTRACT AND THE EFFECT OF LOW TEMPERATURES ON THE DIGESTIVE TRACT INJURED BY DICLOFENAC SODIUM IN THE EXPERIMENT

Introduction. Today, the ulcerogenic effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs is a key factor that significantly limits their clinical use and is a serious medical and social problem, as these drugs are among the most commonly used drugs – they are used annually by about 5–7% of the world's population.

The aim is to characterize the antiulcerogenic effect of cryopreserved placenta extract and its application against the background of low temperatures in the model of diclofenac sodium-induced ulcerogenesis in rats according to macroscopic studies of the proximal and distal digestive tract.

Materials and methods of research. The study was performed on 42 male rats weighing 200–220 g. Acute diclofenac sodium-induced gastrointestinal damage was replicated by a single intragastric administration of diclofenac sodium to rats at a dose of 50 mg/kg. Euthanasia of animals was performed after 24 hours. The condition of the mucous membrane of the digestive tract was assessed on a scale and calculated integrated indicators – ulcer index and antiulcer activity. Cryocell-cryoextract of placenta was administered to rats intramuscularly at a dose of 0.16 ml/kg body weight. Cryoirrigation was performed once by local injection of liquid nitrogen vapor (temperature – 120°C) for 10 s.

Results of the research. It was found that diclofenac sodium at a dose of 50 mg/kg led to erosive-ulcerative damage to the gastric mucosa in 100% of rats, and the ulcer index was 3.9. The most pronounced leveling of the ulcerogenic effect of diclofenac sodium was observed against the combined preventive use of placental cryoextract and low temperature effect – the ulcer index was 12.6 times lower than that of rats with diclofenac sodium-induced ulcerogenesis without correction. Macroscopic evaluation of the distal gastrointestinal tract showed that the introduction of diclofenac sodium led to a statistically significant ($p < 0.05$) lesion of the mucous membrane of the small and large intestine in 42.9% of rats.

Conclusions. According to the magnitude of antiulcer effect (%) in the model of diclofenac sodium-induced ulcerogenesis, the investigated prophylactic approaches for antiulcer activity have the following priority: action of low temperatures + cryoextract of placenta (96.7%) >

cryoextract of placenta (92.1%) ~ esomeprazole (88.2%) > action of low temperatures (72.1%). No lesions of both the small and large intestine on the background of the introduction of placental cryoextract in the model of diclofenac sodium-associated ulcerogenesis were detected.

Keywords: cryopreserved placenta extract, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, diclofenac sodium, NSAID gastropathy, NSAID enteropathy, antiulcer effect.

Corresponding author:

Fedir. V. Hladkykh, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

Резюме

Федір В. Гладких^{1,2}

<https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>

Микола О. Чиж¹

<https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>

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

²Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна

АНТИУЛЬЦЕРОГЕННА ДІЯ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ТА ЕФЕКТ ВПЛИВУ НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР ПРИ УШКОДЖЕННІ ТРАВНОГО ТРАКТУ ДИКЛОФЕНАКОМ НАТРІЮ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Вступ. На сьогоднішній день ульцерогенна дія нестероїдних протизапальних засобів є ключовим фактором, який суттєво обмежує їх клінічне застосування та є серйозною медико-соціальною проблемою, оскільки ці препарати належать до найуживаніших лікарських засобів – їх щорічно застосовує близько 5–7 % населення планети

Мета – охарактеризувати антиульцерогенну дію кріоконсервованого екстракту плаценти та його застосування на тлі дії низьких температур на моделі диклофенак-натрій індукованого ульцерогенезу у щурів за даними макроскопічних досліджень проксимальних та дистальних відділів травного тракту.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведено на 42 щурах-самцях масою 200–220 г. Ушкодження травного тракту відтворювали шляхом одноразово внутрішньошлункового введення щурам диклофенаку натрію в дозі 50 мг/кг. Евтаназію тварин проводили через 24 год. Стан слизової оболонки травного тракту оцінювали за бальною шкалою та розраховували інтегральні показники – виразковий індекс та противиразкову активність. Препарат «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» вводили щурам внутрішньом'язово в дозі 0,16 мл/кг маси тіла. Кріозрошення проводили одноразово шляхом локального вприскування парів рідкого азоту (температура -120°C) протягом 10 с.

Результати дослідження. Встановлено, що, що введення диклофенаку натрію у дозі 50 мг/кг призвело до ерозивно-виразкового ушкодження слизової оболонки шлунка у 100 % щурів, а виразковий індекс становив 3,9. Найвиразніше нівелювання ульцерогенної дії диклофенаку натрію відмічене на тлі комбінованого превентивного застосування кріоекстракту плаценти та дії низьких температур – виразковий індекс у 12,6 разів був нижчим за показники щурів з диклофенаку натрій-індукованим ульцерогенезом без корекції та у 1,5 рази перевищував за ефективністю езомепразол. Макроскопічна оцінка стану дистальних відділів шлунково-кишкового тракту показала, що введення диклофенаку натрію призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) ураження слизової оболонки тонкої та товстої кишки у 42,9 % щурів.

Висновки. За величиною противиразкової дії (%) у шлунку на моделі диклофенак натрій-індукованого ульцерогенезу досліджувані профілактичні підходи доцільно розташувати у наступній послідовності: дія низьких температур + кріоекстракт плаценти (96,7 %) > кріоекстракт плаценти (92,1 %) ~ езомепразол (88,2 %) > дія низьких температур (72,1 %). Уражень як тонкої так і товстої кишки на тлі введення кріоекстракту плаценти на моделі диклофенак натрій-асоційованого ульцерогенезу виявлено не було.

Ключові слова: кріоконсервованний екстракт плаценти, нестероїдні протизапальні засоби, диклофенак натрію, НПЗЗ-гастропатія, НПЗЗ-ентеропатія, противиразкова дія.

Автор, відповідальний за листування:

Федір В. Гладких, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, м. Харків, Україна
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

How to cite/ Як цитувати статтю: Hladkykh FV, Chyzh MO. [Antiulcerogenic effect of cryopreserved placenta extract and the effect of low temperatures on the digestive tract injured by diclofenac sodium in the experiment]. *EUMJ*. 2021;9(3):284-294

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(3\):284-294](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(3):284-294)

Introduction/Вступ

На сьогоднішній день ульцерогенна дія нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) є ключовим фактором, який суттєво обмежує їх клінічне застосування та є серйозною медико-соціальною проблемою, оскільки ці препарати належать до найуживаніших лікарських засобів – їх щорічно застосовує близько 5–7 % населення планети [1, 2].

Найчастіше НПЗЗ використовують в лікуванні ревматоїдного артриту (68,5 %), остеоартриту (12,1 %), анкілозуючого спондилоартриту (7,2 %), рідше – псоріатричного та подагричного артритів, системної червоного вовчаку, склеродермії, дерматоміозиту, остеохондрозу, невралгій та ін. [1, 3].

Від 1986 р. і до останнього часу для НПЗЗ-індукованого ураження шлунково-кишкового тракту (ШКТ) застосовували термін «НПЗЗ-гастропатія», проте останнім часом його доцільно вважати помилковим, що пов'язано як з розширенням відомостей про патогенез цієї патології так і з локалізацією ерозивно-виразкових ушкоджень [1, 4]. Так за даними цілого ряду дослідників – В. В. Вялова, І. В. Маєва, Я. С. Циммермана та ін., термін «НПЗЗ-гастропатія» вказує на патологію в широкому розумінні, адже позначення «-патія» говорить про загальний характер патології, в той час як у патогенезі НПЗЗ-індукованих ушкоджень слизової оболонки (СО) не останнє місце відіграє саме запален-

ня, що вказує на більшу доцільність терміну «НПЗЗ-гастрит». Маєв І.В. та співав. вказують, що патогенез НПЗЗ-асоційованого ураження ШКТ, зокрема, супроводжується утворенням лейкотрієну B_4 , який викликає запалення та ішемію тканин за рахунок адгезії нейтрофілів до ендотелію судин [2]. По-друге, термін «НПЗЗ-гастропатія» (або «НПЗЗ-гастрит») не доцільно використовувати при всіх ушкодженнях ШКТ, пов'язаних із застосуванням вказаних препаратів, оскільки вказує тільки на ураження шлунка, в той час як НПЗЗ здатні вражати СО у всіх, без виключення, відділах травного тракту – стравоході, шлунку, тонкій та навіть товстій кишці [1, 2, 5]. Тому у 2018 р. Лабезнік Л. Б. та співав. [6] запропонували класифікацію мультифокальних пошкоджень СО ШКТ НПЗЗ та антитромботичними препаратами, використовуючи позначення відділів травного тракту літерами – E (esophagus – стравохід), G (gaster – шлунок), D (duodenum – дванадцятипала кишка), I (intestine – тонка кишка) та C (colon – товста кишка) [6].

Відомо, що у патогенезі НПЗЗ-індукованого ураження шлунка провідну роль відіграє блокада ферментів циклооксигенази (ЦОГ), яка представлена двома ізоферментами – конституційною ЦОГ-1 та індукційною ЦОГ-2. Блокада ЦОГ-2 під дією НПЗЗ обумовлює лікувальні ефекти, в той час, як блокада ЦОГ-1 призводить до розвитку небажаних реакцій, оскільки викли-

кає пригнічення утворення цитопротективних простагландинів E_2 та I_2 [7, 8, 9].

Ураження дистальних відділів ШКТ відрізняється наявністю додаткових чинників пошкодження СО – кишкових бактерій, жовчі та ентерогепатичної рециркуляції метаболітів НПЗЗ, що в поєднанні створює так зване «вадове коло» [10, 11]. Крім того до низки чинників патогенезу НПЗЗ-асоційованого ураження ШКТ належить порушення мікроциркуляції, підвищення кишкової моторики, порушення функціонування NO-синтазної системи, дію прозапальних цитокінів, нейтрофільну інфільтрацію та дію вільних радикалів [1, 10, 11, 12].

Складність патогенезу НПЗЗ-індукованого ураження ШКТ обумовлює необхідність комплексного підходу до лікування цієї патології або застосування лікарських засобів з полівекторним механізмом дії. Класично фармакотерапія зазначеної ятрогенної патології направлена на кислотосупресію (інгібітори протонної помри (ППП), H_2 -гістаміноблокатори та ін.), застосування гастроцитопротекторів (де-нол, сукральфат та ін.) та препаратів, які відновлюють вміст простагландинів у СО (мізопростол, ребаміпід та ін.), проте всі зазначені групи лікарських засобів володіють власними побічними ефектами [9, 10].

У якості засобу, здатного підвищувати стійкість СО ШКТ до ушкоджуючої дії НПЗЗ нашу увагу привернув вітчизняний біотехнологічний засіб – кріоконсервованій екстракт плаценти (КЕП) людини, який було створено науковцями Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (ІПКіК НАН України) [16]. Попередні дослідження показали, що превентивне введення КЕП може послаблювати ульцерогенну дію мелоксикаму та ін. [12].

Другим вектором впливу на репаративний потенціал СО нами було обрано дію низькими температурами, що за даними попередніх досліджень здатне призводити до підвищення вмісту метаболітів оксиду нітрогену у гомогенатах СО шлунка (СОШ), що розглядається як механізм цитопротективної дії низьких температур в умовах диклофенак натрій (ДН)-індукованого ураження шлунка [13].

Мета

Охарактеризувати антиульцерогенну дію кріоконсервованого екстракту плаценти та його застосування на тлі дії низьких температур на моделі диклофенак-натрій індукованого ульцерогенезу у щурів за даними макроскопічних

досліджень проксимальних та дистальних відділів травного тракту.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження над лабораторними тваринами виконано 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., Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [14].

Комплексну програму досліджень розглянуто та погоджено Комітетом з біоетики при ІПКіК НАН України (витяг з Протоколу № 2 від 11 березня 2020 р.).

Дослідження проведено на 42 щурах-самцях масою 200–220 г., розділених на 6 групи: I – інтактні щури ($n = 7$),

II група – щури з ДН-індукованим ульцерогенезом (контрольна група) [15] ($n = 7$),

III група – щури з ДН-індукованим ульцерогенезом, яким в профілактичному режимі внутрішньом'язово (в/м) вводили КЕП (5 ін'єкцій протягом 5 днів до ДН);

IV група ($n = 7$) – щури з ДН-індукованим ульцерогенезом, яким виконували кріозрошення СОШ;

V група ($n = 7$) – щури з ДН-індукованим ульцерогенезом, яким в профілактичному режимі внутрішньом'язово (в/м) вводили КЕП та виконували кріозрошення СОШ;

VI група ($n = 7$) – щури з ДН-індукованим ульцерогенезом, яким в профілактичному режимі за схемою, аналогічною введенню КЕП, внутрішньошлунково (в/шл) вводили інгібітор протонної помпи V покоління езомепразол (AT «Актавіс», Ісландія) в дозі 50 мг/кг (5 ін'єкцій за 5 днів) [19].

Гостре диклофенак натрій-індуковане ушкодження ШКТ відтворювали шляхом одноразового внутрішньошлункового (в/шл) введення щурам ДН (ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна) в дозі 50 мг/кг ($UD_{50} = 48$ мг/кг) [15]. ДН в таблетованій лікарській формі подрібнювали та емульгованих у воді *pro injectionibus* (ВАТ «Галичфарм», Україна) з додаванням полісорбату Twin-80.

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 [16, 17, 18]. КЕП застосовували у профілактичному

режимі введення – 1 р/д впродовж 5 днів до введення ДН.

Кріозрошення проводили одноразово шляхом локального вприскування парів рідкого азоту (температура -120°C) на СОШ протягом 10 с з використанням кріоапарату «Стуо Pro Maxi» [13].

Евтаназію тварин проводили через 24 год. після введення НПЗЗ шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним наркозом.

Після видалення стравоходу з органокмплексу його розрізали у повздовжньому напрямку та проводили макроскопічну оцінку структури СО, враховуючи рекомендації міжнародної наукової номенклатурної групи Vevey (2011 р.) про тяжкість езофагіту та розширення стандартної Лос-Анджелеської класифікації гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби, виокремлюючи стадії: М (мінімальні заміни, гіперемія, набряк СО стравоходу) та N (зміни відсутні) [21, 22]. Про-

водили макроскопічну оцінку розміри шлунка (здуття) та наявність спайкових процесів з суміжними органами, як ознак перфорації. Екстирповані шлунки розкривали по великій кривизні, промивали у 0,9 % р-ні NaCl та робили знімки за допомогою цифрового фотоапарату Canon PowerShot SX120 IS. Вплив досліджуваних лікарських засобів на стан шлунка оцінювали макроскопічно за наступними критеріями: набряк, гіперемія та наявність крововиливів на поверхні слизової оболонки. Для кожної групи проводили розрахунок відсоткового складу піддослідних тварин за вказаними ознаками та середнє значення їх виразності, яку оцінювали за наступною шкалою: 0 балів – ознака відсутня, 1 бал – ознака слабо виражена, 2 бали – ознака помірно виражена, 3 бали – ознака добре виражена [20].

Крім того проводили оцінку стану СО шлунка (СОШ) за бальною шкалою (табл. 1) [14].

Таблиця 1 – Бальна оцінка стану СО шлунка [14]

Бали	Характеристика стану СОШ
0	Відсутність видимих ушкоджень
1	Наявність однієї або декількох ознак з переліку: набряк, крововилив(и), виразка(и) діаметром до 1 мм в кількості не більше трьох.
2	Більше трьох виразок діаметром до 1 мм або одна виразка діаметром до 3 мм
3	Наявність бодай однієї виразки діаметр до 4 мм
4	Декілька виразок діаметром до 4 мм
5	Перфоративна виразка

Розрахунок інтегрального показника стану СОШ – виразкового індексу (ВІ) проводили за формулою:

$$ВІ = (\text{Середній бал за шкалою Яковлевої Л. В.} \times \% \text{ тварин з виразками}) / 100$$

Противиразкову активність (ПВА, %) визначали за формулою:

$$ПВА = ((ВІ_{\text{дослідної групи}} - ВІ_{\text{контрольної групи}}) / ВІ_{\text{контрольної групи}}) \times 100$$

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням W-критерію Шапіро-Вілкі, критерію Левена, t-критерію Ст'юдента, U-критерію Манна-Уїтні та F-критерію кутового перетворення Фішера. Данні за нормального розподілу наведені у вигляді « $M \pm m$ (95 % ДІ)», де M – середнє арифметичне значення, m – стандартна похибка середнього арифметичного, 95 % ДІ: – 95 % довірчий інтервал За ненорма-

льного розподілу величин дані представлено у вигляді Me [LQ; UQ], де Me – медіана, [LQ; UQ] – верхня межа нижнього квантиля та нижня межа верхнього квантиля [14].

Результати дослідження та їх обговорення

Проведене дослідження показало, що в/шл введення ДН у дозі 50 мг/кг призвело до ерозивно-виразкового ушкодження СОШ у 100 % щурів (табл. 2, 3). Виразне здуття шлунка було відмічене у 71,4 % тварин, геморагії та порушення складчастості – у 100 %, а гіперемія СОШ – у 85,7 % тварин (табл. 2, рис. 1Б). Помірне порушення складчастості СОШ (2 [1; 2] бали) у тварин може вказувати на локальне запалення через місцевоподразнюючу дію ДН та інфільтрацію СО, а також пов'язано із наявністю чисельних виразкових дефектів – ВІ становив 3,9 (табл. 3, рис. 1Б).

Таблиця 2 – Вплив КЕП та дії низьких температур на стан СОШ на тлі диклофенак натрій-індукованої гастропатії (М ± m або Me [LQ; UQ] n = 42)

Умови досліджу		Показник				
		Здуття	Геморагії	Гіперемія	Набряк	Порушення складчастості
Інтактні щури (n = 7)	Абс. (%)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0	0	0	0	0
Диклофенак натрію (n = 7)	Абс. (%)	5/7* (71,4)	7/7 (100)	6/7 (85,7)	1/7 (14,3)	7/7 (100)
	Бали	3 [1; 3]*	3 [2; 3]*	1 [1; 1,5]*	0	2 [1; 2]*
Диклофенак натрію + КЕП (n = 7)	Абс. (%)	0/7# (0)	4/7 (57,1)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0#	1 [0; 2] #	0#	0	0#
Диклофенак натрію + дія низьких температур (n = 7)	Абс. (%)	3/7*§ (42,9)	2/7 (28,6)	7/7 (100)	3/7 (42,9)	7/7 (7)
	Бали	0 [0; 3]	0 [0; 1,5] #	3 [2,5; 3] #§	0 [0; 2,5]	2 [1,5; 2] §
Диклофенак натрію + дія низьких температур + КЕП (n = 7)	Абс. (%)	0/7#§" (0)	0/7 (0)	7/7 (100)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0#	0 [0; 0] #§	2 [1,5; 2,0] §"	0	0#"
Диклофенак натрію + Езомепразол (n = 7)	Абс. (%)	0/7#§" (0)	2/7 (28,6)	2/7 (28,6)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0#	0 [0; 1,5] #	0 [0; 1,5] "	0	0#"

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували тільки диклофенак натрію;
3. § – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували диклофенак натрію та КЕП;
4. " – $p < 0,05$ відносно показників щурів з диклофенак натрій-індукованою гастропатією, яким проводили криозрошення СОШ



А



Б



В

Рисунок 1 – Стан СОШ:

А – інтактної тварини,

Б – тварини з диклофенак натрій-індукованою гастропатією,

В – тварини з диклофенак натрій-індукованою гастропатією в умовах дії низьких температур



Рисунок 1 – Стан СОШ (продовження):

Г – тварини з диклофенак натрій-індукованою гастропатією в умовах корекції КЕП,

Д – тварини з диклофенак натрій-індукованою гастропатією в умовах корекції КЕП та дії низьких температур;

Е – тварини з диклофенак натрій-індукованою гастропатією в умовах корекції езомепразолом

Варто відзначити, що введення ДН викликало ураження стравоходу у 42,9 % шурів (табл. 3).

Превентивне введення езомепразолу статистично вірогідно ($p < 0,05$) знижувало ульцерогенний вплив ДН на СОШ (табл. 2, 3). Встановлено, що виразкові uszkodження в СО шлунка відмічені лише у 28,6 % шурів, а ВІ у 8,5 разів був нижчим за показники контрольної групи шурів з ДН-індукованим uszkodженням шлунка без

корекції та становив 0,46 (табл. 3). Слабко виражені гіперемія та поодинокі геморагії, подібно до виразкових дефектів, було відмічено у 28,6 %, а здуття шлунка чи порушення складчастості не відмічено в жодній тварини (рис. 1Е). Отримані результати узгоджуються з літературними відомостями про виразну ПВА ІПП, зокрема при НПЗЗ-асоційованих ураженнях шлунка [10, 19].

Таблиця 3 – Вплив КЕП та дії низьких температур на стан проксимальних відділів ШКТ на тлі диклофенак натрій-індукованої гастропатії ($M \pm m$ або $Me [LQ; UQ]$, $n = 42$)

Умови досліджу	Відділ ШКТ		Стравохід	Шлунок		
	Показник	К-ть тварин, n	Кількість тварин з М-ступенем uszkodження, абс. (%)	Кількість тварин з виразками, абс. (%)	Середній бал в групі	Виразковий індекс
Інтактні шури		7	0 (0)	0 (0)	0	0
Диклофенак натрію		7	3/7* (42,9)	7/7* (100)	3,9 $\pm 0,26^*$	3,9
Диклофенак натрію + КЕП		7	0/7# (0)	2/7# (28,6)	1,1 $\pm 0,26^{*\#}$	0,31
Диклофенак натрію + дія низьких температур		7	0/7# (0)	4/7* (51,7)	2,1 $\pm 0,46^{*\#}$	1,09
Диклофенак натрію + дія низьких температур + КЕП		7	0/7# (0)	1/7*# (14,3)	0,9 $\pm 0,26^{*\#\S}$	0,13
Диклофенак натрію + Езомепразол		7	0/7# (0)	2/7*# (28,6)	1,6 $\pm 0,53^{*\#}$	0,46

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ відносно показників шурів, які отримували тільки диклофенак натрію;
- § – $p < 0,05$ відносно показників шурів які отримували диклофенак натрію та КЕП;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників шурів, які отримували диклофенак натрію та езомепразол

Застосування КЕП впродовж 5 днів до введення ульцерогенної дози ДН супроводжувалось співставним з езомепразолом антиульцерогенним ефектом – ВІ становив 0,31, проте у 57,1 % шурів було відмічено наявність геморагій у СОШ (табл. 2, рис. 1В). Отримані дані вказують, що в умовах курсового превентивного введення КЕП за про-

тивиразковою дією співставляється з езомепразолом, проте відомо, що на відміну від КЕП, ІПП здатні нівелювати ульцерогенну дію НІПЗ навіть за одноразового введення, оскільки здатні ослаблювати ключовий патогенетичний чинник агресії в умовах НІПЗ-індукованої гастропатії – знижувати кислотність шлункового соку.

Таблиця 4 – Вплив КЕП та дії низьких температур на стан СО тонкої кишки на тлі диклофенак натрій-індукованого ушкодження (M ± m, n = 42)

Умови дослідження	Показник	К-ть тварин, n	К-ть тварин з виразками, абс. (%)	Кількість виразок на 10 см довжини		
				загальне число	з гемосидерином	перфоративних
Інтактні шури		7	0/7 (0)	0	0	0
Диклофенак натрію		7	3/7* (42,9)	0 [0; 20]	0 [0; 11]	0
Диклофенак натрію + КЕП		7	0/7 # (0)	0	0	0
Диклофенак натрію + дія низьких температур		7	2/7 (28,6)	0 [0; 9]	0 [0; 8]	0
Диклофенак натрію + дія низьких температур + КЕП		7	2/7 (28,6)	0 [0; 7]	0 [0; 3]	0
Диклофенак натрію + Езомепразол		7	2/7 (28,6)	0 [0; 13]	0 [0; 5]	0

Примітки: * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин

Оцінка ефективності дії низьких температур на СОШ в умовах ДН-індукованого ульцерогенезу показала найнижчу противиразкову ефективність – ВІ у 2,4 рази перевищував аналогічний показник у шурів на тлі застосування езомепразолу (табл. 3), а виразки шлунка були виявлені у 51,7 % шурів. Привертає увагу, що виразну гіперемію та слабковиражений набряк СОШ (рис. 1Г) відмічено у 100 % шурів, що перевищувало аналогічні показники у тварин контрольної групи (ДН-індукований ульцерогенез без корекції). Виявлені зміни в СОШ обумовлені локальною гіперемією СОШ на дію низьких температур.

Найвиразніше нівелювання ульцерогенної дії ДН відмічено на тлі комбінованого превентивного застосування КЕП та дії низьких температур – ВІ у 12,6 разів був нижчим за показники шурів з ДН-індукованим ульцерогенезом без корекції та у 1,5 рази перевищував за ефективністю езомепразол (табл. 3). Виразкові ураження СОШ виявлені тільки у 14,3 % тварин, а з числа інших макроскопічних змін відмічена тільки помірна гіперемія (табл. 2, рис. 1Д).

Аналізуючи виразність антиульцерогенної дії

досліджуваних комбінацій препаратів та фізичних чинників можна зробити висновок, що за величиною противиразкової дії у шлунку на моделі ДН-індукованого ульцерогенезу досліджувані профілактичні підходи доцільно розташувати у наступній послідовності: дія низьких температур + КЕП (ПВА = 96,7 %) > КЕП (ПВА = 92,1 %) = езомепразол (ПВА = 88,2 %) > дія низьких температур (ПВА = 72,1 %).

Макроскопічна оцінка стану дистальних відділів ШКТ показала, що введення диклофенаку натрію призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) ураження СО тонкої та товстої кишки у 42,9 % шурів (табл. 4, 5).

Профілактичне застосування езомепразолу, КЕП, та комбіноване застосування КЕП та дії низьких температур призвели до зниження частоти розвитку ДН-індукованого ураження тонкої кишки в усіх перерахованих умовах експерименту у 1,5 рази, що становило відповідно 28,6 %, а найменша кількість виразок відмічена на тлі комбінованого застосування КЕП та дії низьких температур – 0 [0; 7] виразок на 10 см довжини (табл. 4).

Таблиця 5 – Вплив КЕП та дії низьких температур на стан СО товстої кишки на тлі диклофенак натрій-індукованого ушкодження (M ± m, n = 42)

Умови досліджу	Показник	К-ть тварин, n	К-ть тварин з виразками, абс (%)	Кількість виразок на 10 см довжини		
				загальне число	з тромбами	перфоративних
Інтактні щури		7	0/7 (0)	0	0	0
Диклофенак натрію		7	3/7* (42,9)	0 [0; 21]	0 [0; 9]	0
Диклофенак натрію + КЕП		7	0/7#° (0)	0	0	0
Диклофенак натрію + дія низьких температур		7	0/7#° (0)	0	0	0
Диклофенак натрію + дія низьких температур + КЕП		7	0/7#° (0)	0	0	0
Диклофенак натрію + Езомепразол		7	3/7 (42,9)	0 [0; 29]	0 [0; 22]	0

Примітки:

1. * – p < 0,05 відносно показників інтактних тварин;
2. # – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували тільки диклофенак натрію;
3. ° – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували диклофенак натрію та езомепразол

Привертають увагу результати оцінки стану СО товстої кишки у щурів з ДН-індукованим ульцерогенезом – у щурів, яким превентивно вводили езомепразол виразкові дефекти виявлені у 42,9 % щурів (табл. 5), аналогічно до показників тварин групи щурів, яким не проводили корекції, що узгоджується з даними про відсут-

ність ефективності у ППІ відносно ДН-асоційованого ураження товстої кишки.

Варто відзначити, що у щурів, яким вводили КЕП та його комбіноване застосування з дією низьких температур уражень товстої кишки на тлі ДН-асоційованого ульцерогенезу виявлено не було (табл. 5).

Conclusions/Висновки

1. Встановлено, що, введення ДН у дозі 50 мг/кг призвело до ерозивно-виразкового ушкодження слизової оболонки шлунка у 100 % щурів, а виразковий індекс становив 3,9.

2. Найвиразніше нівелювання ульцерогенної дії ДН відмічено на тлі комбінованого превентивного застосування КЕП та дії низьких

температур – виразковий індекс у 12,6 разів був нижчим за показники щурів з ДН-індукованим ульцерогенезом без корекції та у 1,5 рази перевищував за ефективністю езомепразол.

3. У щурів, яким вводили КЕП уражень як тонкої так і товстої кишки на тлі ДН-асоційованого ульцерогенезу виявлено не було.

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

Доцільною є порівняльна оцінка антиульцерогенної дії кріоконсервованого екстракту плаценти за ураження шлунково-кишкового тракту НПЗЗ інших хімічних груп, а також дослідження впливу досліджуваного екстракту на специфічну фармакологічну активність НПЗЗ, зокрема протизапальний та знеболюючий ефекти.

References/Список літератури

1. Czimmerman YS. Gastric or peptic ulcer: Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): NSAID gastritis or NSAID gastropathy? *Clinical pharmacologists and therapy*. 2018;27(1):1–8.
2. Karateev AE, Nasonov EL, Yakhno NN, Ivashkin VT, Chichasova NV, Alekseeva LI, Karpov YuA, Evseev MA, Kukushkin ML, Danilov AB, Vorobyeva OV, Amelin AV, Novikova DS, Drapkina OM, Kopenkin SS,

- Abuzarova GR. Clinical guidelines «Rational use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in clinical practice». *Modern Rheumatology Journal*. 2015;9(1):4–23. DOI: <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2015-1-4-23>
3. Amirdjanova VN, Karateev AE. New aspects of pain management in acute and chronic inflammatory syndromes. *Modern Rheumatology Journal*. 2021;15(1):73–78. DOI: <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2021-1-73-78>
 4. Maev IV, Andreev DN, Dicheva DT. Gastropathies induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: pathogenetically determined approaches to prevention and therapy. *Pharmacy*. 2016;2:49–54.
 5. Vyalov SS. Restoration of the mucous membrane of the gastrointestinal tract or reduction of gastric acidity? – «Priorities in treatment». *Effective pharmacotherapy*. 2016;1:1–9.
 6. Lazebnik LB, Belova GV. Systematization of multifocal lesions of the mucosa of the digestive tract by non-steroidal anti-inflammatory and antitrombotic drugs (“Moscow classification”). *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2018;151(3):19–27.
 7. Pellicano R. Gastrointestinal damage by non-steroidal anti-inflammatory drugs: updated clinical considerations. *Minerva Gastroenterol Dietol*. 2014;60(4):255–261.
 8. Lim YJ, Lee JS, Ku YS, Hahm KB. Rescue strategies against non-steroidal anti-inflammatory drug-induced gastroduodenal damage. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2009;24:1169–78.
 9. Hladkykh FV. Preventive and treatment strategies for pharmacocorrection of gastropathy induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Reviews of clinical pharmacology and drug therapy. 2017;4:14–23. DOI: <http://doi.org/10.17816/RCF15414-23>
 10. Hladkykh FV, Chyzh MO. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a modern understanding of the mechanisms of damage to the digestive tract, the shortcomings of pathogenetic drugs and prospects for biological therapy of NSAID-induced esophagogastrocolonopathy. *Gastroenterology*. 2020;4:253–266. DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.4.2020.216714>
 11. Gubskaya OYu, Kuzminets AA. NSAID enterotoxicity: focus on the problem. *Modern Gastroenterology*. 2018;5(103):50–59. DOI: <http://doi.org/10.30978/MG-2018-5-50>
 12. Hladkykh FV, Chyzh MO. Modulation of meloxicam-induced changes in gastrointestinal and motor activity of the stomach by applying placenta cryoextract. *Proceedings of the Shevchenko Scientific Society. Medical Sciences*. 2021;64(1):84–94. DOI: <https://doi.org/10.25040/ntsh2021.01.08>
 13. Hladkykh FV, Chyzh MO. The effect of cryoirrigation and cryopreserved placenta extract on the content of nitrogen monoxide in the gastric mucosa in rats with diclofenac sodium-induced gastropathy. *The 58-th Annual Meeting of the Society for Cryobiology «CRYO 2021»*, 21–23 July, Chicago. 2021; Chicago. USA, 2021. p. 97–98.
 14. Stefanov OV. Preclinical studies of drugs: guidelines. Kyiv: Avicenna; 2001. 527 p.
 15. Stepanjuk NG. Characteristics of the protective effect of quercetin and its water-soluble form of corvutin in a model of diclofenac-induced gastropathy. *Georgian Med News*. 2019; (296): 140–4.
 16. Goltsev AN, ed. Placenta: cryopreservation, clinical use. Kharkiv; 2013. 268 p.
 17. 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: <http://doi.org/10.15761/JMT.1000118>
 18. Rybolovlev YuR, Rybolovlev RS. Dosage of substances for mammals by constants of biological activity. *Reports of the USSR Academy of Sciences*. 1979;247(6):1513–6.
 19. Wei Xie, Xielin Huang, Renpin Chen, Ruru Chen, Tang Li, Wei Wu, Zhiming Huang. 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-κB signaling pathways. *Drug Design, Development and Therapy*. 2019;22(13):2969–2984. DOI: <http://doi.org/10.2147/DDDT.S193641>
 20. Hladkykh FV, Stepanuk NG, Vernygorodsky SV. Macro- and microscopic study of the effect of 2-phenyl-3-carboxy-4-

- dimethylaminomethyl-5-oxybenzofuran hydrochloride (vinborone) on gastrototoxicity ibuprofen in experimental rheumatoid arthritis in rats. *Trajectory of Science: International Electronic Scientific Journal = Traektoriâ Nauki = Path of Science*. 2017;10:7001–7018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.22178/pos.27-8>
21. Modlin IM, Hunt RH., Malfertheiner P, Moayyedi P, Quigley EM, Tytgat GN, Tack J, Heading RC, Holtman G, Moss SF. Diagnosis and management of non-erosive reflux disease – the Vevey NERD Consensus Group. *Digestion*. 2009;80 (2):74–88. DOI: <https://doi.org/10.1159/000219365>
22. Schneider NI, Plieschnegger W, Geppert M, Wigglinghaus B, Hoess GM, Eherer A, Wolf EM, Rehak P, Vieth M, Langner C. Validation study of the Esohisto consensus guidelines for the recognition of microscopic esophagitis. *Human pathology*. 2014;45(5):994–1002.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2013.12.013>

(received 05.08.2021, published online 29.09.2021)

(одержано 05.08.2021, опубліковано 29.09.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Acknowledgements/Зв'язок роботи з науковими програмами/Джерела фінансування

Фінансування видатками державного бюджету України. Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи ІПКіК НАН України «Деструктивні та відновні процеси в ткани-

нах *in vivo* після дії низьких температур та біологічно активних речовин» (шифр 2.2.6.113, номер державної реєстрації 0117U001049).

Information about the authors/Відомості про авторів

Гладких Федір Володимирович – аспірант відділу експериментальної кріомедицини, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, 61016, Україна; молодший науковий співробітник групи променевої терапії Відділу радіології, Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, 61024, Україна

тел.: +33 (099) 782-78-72,
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7924-40481>,
Web of Science: M-5709-2017

Чиж Микола Олексійович – кандидат медичних наук, старший дослідник, в. о. завідувача відділом експериментальної кріомедицини, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, 61016, Україна

тел.: +38 (066) 427-10-71,
e-mail: chizh.cryo@gmail.com,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>