

## АНОТАЦІЯ

*Кошурба І. В.* Противиразковий та гепатозахисний ефекти кріоекстракту плаценти (експериментальне дослідження). Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань «22 – Охорона здоров'я» (кандидата медичних наук) за спеціальністю «222 – Медицина». Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і наук України, Харків, 2024.

Дисертаційна робота присвячена експериментальному обґрунтуванню нового рішення наукового завдання, спрямованого на дослідження впливу кріоекстракту плаценти (КЕП) за профілактичного, лікувально-профілактичного та лікувального режимів застосування на перебіг виразкової хвороби (ВХ) та гострих і хронічних уражень печінки.

Дослідження проведено на 364 нелінійних лабораторних щурах обох статей на базі навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича Міністерства освіти і науки України та відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (ІПКіК НАН України).

*Мета роботи* – встановити вплив КЕП на перебіг виразкування шлунка та токсичні ураження печінки.

*Об'єкт дослідження* – перебіг патологічних змін у слизовій оболонці шлунка (СОШ) та печінці щурів на тлі експериментального виразкування та ураження паренхіми печінки.

*Предмет дослідження* – біологічні властивості КЕП та препаратів потрійної противиразкової терапії.

Противиразкову активність (ПВА) КЕП вивчали за різних режимів введення на експериментальних моделях ульцерогенезу у шлунку, індукованого спиртово-преднізолоновою сумішшю (СПС), стресом,

серотоніном та оцтовою кислотою. Дано характеристику стану СОШ за даними макроскопічного, патоморфологічного та біохімічного досліджень.

Отримані за результатами досліджень дані дали можливість зробити висновки, що профілактичне введення КЕП на моделі СПС-індукованого ульцергенезу призвело до статистично вірогідного ( $p < 0,05$ ) зниження виразкового індексу (ВІ) у 7,4 рази відносно показників тварин контрольної групи, що відповідало ПВА на рівні 86,5 %. За лікувального режиму застосування вказаного кріоекстракту відмічена ПВА на рівні 22,2 %. Лікувально-профілактичне застосування КЕП чинило антиульцерогенну дію на рівні 92,3 %, що співставлялось з аналогічною активністю езомепразолу (97,4 %). На моделі серотонін-індукованого ульцергенезу встановлено, що при застосуванні КЕП у лікувально-профілактичному режимі ВІ у 13,7 разів був нижчим ніж у нелікованих тварин, відповідно антиульцерогенна активність становила 92,6 %.

Доведено, що на моделі стрес-індукованої виразки шлунка введення КЕП призвело до статистично вірогідного ( $p < 0,05$ ) зниження ВІ відносно показників щурів контрольної групи у 9,8 разів, що відповідало ПВА на рівні 89,7 %. Профілактичне застосування вказаного кріоекстракту призвело до зростання енергетичного заряду (ЕЗ) в гомогенатах СОШ ( $p < 0,001$ ) на 35,1 %, підвищення ( $p < 0,001$ ) антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) у 3,1 рази відносно показників щурів контрольної групи, а також до зростання рівня ( $p < 0,01$ ) загального білка (ЗБ) на 29,0 %, зменшення вмісту ( $p < 0,01$ ) окисномодифікованих білків (ОМБ) на 20,6 % та зростання рівня фосфоліпідів (ФЛ) у пулі загальних ліпідів ( $p < 0,001$ ) у 2,3 рази в гомогенатах СОШ відносно показників нелікованих тварин.

За лікувального режиму застосування на моделі ульцергенезу, індукованого оцтовою кислотою, ПВА КЕП становила 30,2 %. Введення досліджуваного кріоекстракту після стовбурової кріоденервації шлунка (СКШ) призвело до зниження загальної кислотності ( $p < 0,001$ ) на 24,2 % та зниження ( $p < 0,001$ ) рівня вільної кислотності на 48,7 % та, відповідно, до

зниження ( $p < 0,001$ ) співвідношення «вільна/зв'язана кислотність» у 2 рази порівняно з показниками у інтактних тварин.

Гепатотропну дію КЕП досліджували за профілактичного, лікувального та лікувально-профілактичного режимів застосування на моделях тетрахлорметан (ТХМ)-індукованого, D-галактозамінового (ДГА) та парацетамолового уражень печінки у щурів. За даними біохімічних досліджень крові та гомогенатів печінки дано оцінку впливу КЕП на функціональний стан печінки. Встановлено наявність антихолестатичної та енергостабілізуючої дії у досліджуваного кріоекстракту при гострих ураженнях печінки.

Проведені дослідження показали, що застосування КЕП проявляло виразну гепатозахисну дію на моделях гострих токсичних уражень печінки. Профілактичне введення КЕП тваринам з ТХМ-індукованим гепатитом призвело до зниження вмісту ( $p < 0,01$ ) реактантів з 2-тіобрарбітуровою кислотою (ТБК-РП) на 35,6 %, зниження рівнів ( $p < 0,001$ ) аланінамінотрансферази (АлАт) та аспартатамінотрансферази (АсАт) на 56,0 % та 48,6 % відповідно, зниження на 37,8 % рівня  $\gamma$ -глутамілтранспептидази ( $\gamma$ -ГТП) та зростання рівня ЕЗ в гомогенатах тканини печінки ( $p = 0,02$ ) на 18,2 % відносно показників щурів з ТХМ-індукованим гепатитом без лікування. Лікувально-профілактичне введення КЕП тваринам з ДГА-індукованим гепатитом супроводжувалось зниженням вмісту ТБК-РП ( $p < 0,001$ ) на 43,8 %, зниженням рівнів АлАт ( $p < 0,001$ ) у 2,4 рази та АсАт ( $p < 0,001$ ) на 45,3 %, та зниженням рівню загального білірубину ( $p < 0,001$ ) на 53,5 % відносно показників тварин з ДГА-індукованим гепатитом без лікування. КЕП за лікувального режиму застосування у щурів з парацетамол-індукованим гепатитом призводив до зростання значення АПІ у гомогенатах печінки ( $p < 0,01$ ) у 2,3 рази, а також до зниження активності АлАт та АсАт ( $p < 0,001$ ) на 44,0 % і 29,6 % відповідно та зниження рівня прямого білірубину ( $p < 0,001$ ) на 52,5 % у сироватці крові відносно показників тварин з парацетамол-індукованим гепатитом без лікування.

Встановлена гепатозахисна дія КЕП на моделях гострих уражень печінки у щурів слугувала підґрунтям дослідження ефективності профілактичного застосування зазначеного кріоекстракту на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого (ЕТХМ) ураження печінки та його поєднання з ураженнями печінки противиразковими засобами – езомепразолом, кларитроміцином та метронідазолом (Е/К/М) за їх комбінованого застосування.

Застосування КЕП на тлі комбінованого нарізного введення Е/К/М у тварин з хронічним ЕТХМ ураженням печінки призводило до ослаблення гепатотоксичної дії противиразкових засобів, що підтверджувалось зниженням активності АлаТ та АсАт ( $p < 0,05$ ) на 30,0 % та 49,2 % відповідно та зниженням концентрації загального білірубіну ( $p < 0,01$ ) на 41,7 % відносно показників тварин з аналогічним ураженням печінки, яким вводили вказані противиразкові препарати, що було нижчим ( $p < 0,001$ ) на 25,5 %, за показники тварин з ураженням печінки, яким не вводили медикаментозні засоби.

Комбіноване застосування противиразкових препаратів та КЕП на тлі хронічного ЕТХМ ураження печінки проявляло гендерно детерміновані відмінностями впливу. Так, у щурів-самців без зміни гормонального статусу продемонстровано більше у 1,6 рази зниження ( $p < 0,001$ ) вмісту білірубіну (43,1 %), ніж у самиць (27,4 %). Введення КЕП в аналогічних умовах експерименту у самиць щурів без зміни гормонального статусу супроводжувалось нижчою ( $p < 0,01$ ) на 34,5 % активністю  $\gamma$ -ГТП у гомогенатах печінки, ніж у самиць щурів, яким не вводили вказаний кріоекстракт. У самиць щурів після оваріектомії, яким вводили КЕП активність  $\gamma$ -ГТП у гомогенатах печінки була нижчою ( $p < 0,01$ ) на 45,8 % відносно показників самиць, яким вказаний кріоекстракт не вводили.

*Наукова новизна одержаних результатів.* Вперше досліджено механізми ПВА КЕП за профілактичного, лікувального та лікувально-профілактичного режимів застосування на моделях спиртово-преднізолонового, стресового, серотонінового та оцтовокислого уражень

шлунка у щурів. Вивчено ефекти комбінованого застосування препаратів потрійної противиразкової терапії та КЕП в порівнянні з монотерапією антиульцерогенними засобами. Вперше вивчено вплив комбінованого застосування потрійної противиразкової терапії та КЕП на перебіг експериментального хронічного ЕТХМ ураженням печінки та вивчено роль статевих чинників у механізмах гастро- та гепатопротекторної активності КЕП.

Встановлена противиразкова та гепатозахисна активність КЕП обґрунтовує доцільність проведення подальших доклінічних та клінічних досліджень з метою розширення показів до застосування досліджуваного екстракту, зокрема в гастроентерології та гепатології.

*Практичне значення отриманих результатів* полягає в тому, що викладені в дисертаційному дослідженні положення, мають теоретико-прикладну спрямованість і можуть бути використані у:

- *освітньому процесі* – як основа для розширення відомостей про сучасні противиразкові та гепатозахисні лікарські засоби (ЛЗ) у викладанні фармакології, клінічної фармакології та внутрішньої медицини, зокрема гастроентерології, впровадження отриманих відомостей у науковий процес відповідних кафедр медичних та фармацевтичних закладів вищої освіти;
- *практичній діяльності* закладів охорони здоров'я щодо розширення показів до медичного застосування КЕП;
- *науково-дослідній діяльності* – для проведення подальших поглиблених наукових досліджень противиразкового та гепатотропного ефектів КЕП.

*Ключові слова:* виразкова хвороба шлунка, виразковий індекс, водно-іммобілізаційний стрес, гастропротекція, гепатозахисна дія, етановловий цироз, інгібітори протонної помпи, кріоекстракт плаценти, противиразкова активність, слизова оболонка шлунка, спиртово-преднізолонова виразка, стовбурова кріоденервація шлунка, тетрахлорметановий гепатит, шлункова секреція, *Helicobacter pylori*.

## ANNOTATION

*Koshurba I. V.* Antiulcer and hepatoprotective effects of cryopreserved placenta extract (experimental study). Qualification scientific work published as manuscript.

Thesis for the degree Doctor of Philosophy in «22 – Health Care» in the specialty of «222 – Medicine». V. N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2024.

The dissertation is devoted to the experimental substantiation of a new solution to a scientific task aimed at researching the effect of placenta cryoextract under prophylactic, curative-prophylactic and curative modes of application on the course of peptic ulcer disease and acute and chronic liver lesions.

The study was conducted on 364 non-linear laboratory rats of both sexes on the basis of the Educational and Scientific Institute of Biology, Chemistry and Bioresources of the Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine and the Department of Experimental Cryomedicine of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine.

*The aim of the dissertation* is to establish the effect of placenta cryoextract on the course of gastric ulceration and toxic liver damage.

*The object of the study* is the course of pathological changes in the mucous membrane of the stomach and liver of rats against the background of experimental ulceration and damage to the liver parenchyma.

*The subject of the study* is the biological properties of placenta cryoextract and drugs of triple anti-ulcer therapy.

The anti-ulcer activity of the cryoextract of the placenta was studied under different modes of administration on experimental models of ulcerogenesis in the stomach induced by an alcohol-prednisolone mixture, stress, serotonin and acetic

acid. The condition of the mucous membrane of the stomach is characterized according to the data of macroscopic, pathomorphological and biochemical studies.

The data obtained as a result of the research made it possible to conclude that the prophylactic administration of the cryoextract of the placenta in the model of alcohol-prednisone ulcerogenesis led to a statistically significant ( $p < 0.05$ ) decrease in the ulcer index by 7.4 times compared to the indicators of animals of the control group, which corresponded to anti-ulcer activity at the level of 86.5 %. Anti-ulcer activity at the level of 22.2 % was noted during the treatment regimen of the indicated cryoextract. Therapeutic and prophylactic use of placenta cryoextract had an antiulcerogenic effect at the level of 92.3 %, which was comparable to the similar activity of esomeprazole (97.4 %). On the model of serotonin-induced ulcerogenesis, it was established that when the cryoextract of the placenta was used in the therapeutic and preventive mode, the ulcer index was 13.7 times lower than in untreated animals, accordingly, the antiulcerogenic activity was 92.6 %.

It was proved that in the model of stress-induced gastric ulcer, the introduction of cryoextract of the placenta led to a statistically significant ( $p < 0.05$ ) decrease in the ulcer index by 9.8 times compared to the indicators of rats in the control group, which corresponded to antiulcer activity at the level of 89.7 %. Prophylactic use of the indicated cryoextract led to an increase in the energy charge in the homogenates of the gastric mucosa ( $p < 0.001$ ) by 35.1 %, an increase in the antioxidant-prooxidant index ( $p < 0.001$ ) by 3.1 times compared to the indicators of rats in the control group, as well as an increase the level of total protein ( $p < 0.01$ ) by 29.0 %, a decrease in the amount of oxidatively modified proteins ( $p < 0.01$ ) by 20.6 % and an increase in the level of phospholipids in the pool of total lipids ( $p < 0.001$ ) by 2.3 times in homogenates of the gastric mucosa relative to the parameters of untreated animals.

The anti-ulcer activity of the cryoextract of the placenta under the therapeutic regimen of use on the model of ulcerogenesis induced by acetic acid was 30.2 %. Administration of the studied cryoextract after trunk cryodenervation of the stomach

led to a decrease in total acidity ( $p < 0.001$ ) by 24.2 % and a decrease ( $p < 0.001$ ) in the level of free acidity by 48.7 % and, accordingly, to a decrease ( $p < 0.001$ ) in the ratio "free/bound acidity" by 2 times compared to the indicators in intact animals.

The hepatotropic effect of cryoextract of the placenta was studied under prophylactic, curative and curative-prophylactic modes of use on models of tetrachloromethane, D-galactosamine and paracetamol liver lesions in rats. Based on the data of biochemical studies of blood and liver homogenates, an assessment of the effect of placenta cryoextract on the functional state of the liver was given. Anticholestatic and energy-stabilizing effects of the investigated cryoextract in acute liver damage were established.

The conducted studies showed that the use of cryoextract of the placenta showed a pronounced hepatoprotective effect on models of acute toxic liver lesions. Prophylactic administration of cryoextract of the placenta led to a decrease in the content of reactants with 2-thiobarbituric acid ( $p < 0.01$ ) by 35.6 %, a decrease in the levels of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase ( $p < 0.001$ ) by 56.0 % and 48.6 %, respectively, a decrease by 37.8 % of the level of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase and an increase in the level of energy charge in liver tissue homogenates ( $p = 0.02$ ) by 18.2 % compared to the indicators of rats with tetrachloromethane hepatitis without treatment. Therapeutic and prophylactic administration of cryoextract of the placenta was accompanied by a decrease in the content of reactants with 2-thiobarbituric acid ( $p < 0.001$ ) by 43.8 %, a decrease in the levels of alanine aminotransferase ( $p < 0.001$ ) by 2.4 times and aspartate aminotransferase ( $p < 0.001$ ) by 45.3 %, and a decrease in the level of total bilirubin ( $p < 0.001$ ) by 53.5 % relative to the indicators of animals with D-galactosamine hepatitis without treatment. Cryoextract of the placenta under the therapeutic regimen led to an increase in the value of the antioxidant-prooxidant index in liver homogenates ( $p < 0.01$ ) by 2.3 times, as well as to a decrease in the activity of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase ( $p < 0.001$ ) by 44.0 % and 29.6 %, respectively, and a decrease in the level of direct bilirubin ( $p < 0.001$ ) by



52.5 % in peripheral blood relative to the parameters of animals with paracetamol-induced hepatitis without treatment.

The established hepatoprotective effect of placenta cryoextract on models of acute lesions of liver lesions in rats served as the basis for the study of the effectiveness of the preventive use of the specified cryoextract against the background of chronic ethanol-tetrachloromethane liver damage and its combination with liver damage by antiulcer agents - esomeprazole, clarithromycin and metronidazole for their combined use.

The use of cryoextract of the placenta against the background of the combined injection of esomeprazole, clarithromycin and metronidazole in animals with chronic ethanol-tetrachloromethane liver damage in rats led to a weakening of the hepatotoxic effect of antiulcer agents, which was confirmed by a decrease in the activity of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase ( $p < 0.05$ ) by 30.0 % and 49.2 %, respectively, and a decrease in the concentration of total bilirubin ( $p < 0.01$ ) by 41.7 % compared to the indicators of animals with similar liver damage, which were administered the specified antiulcer drugs, which was lower ( $p < 0.001$ ) by 25.5 %, for the indicators of animals with liver damage, which were not administered drugs.

The combined use of anti-ulcer drugs and placenta cryoextract against the background of chronic ethanol-tetrachloromethane liver damage showed gender-determined differences. Thus, in male rats without a change in hormonal status, a 1.6-fold decrease ( $p < 0.001$ ) in bilirubin content (43.1 %) was demonstrated than in female rats (27.4 %). Administration of placenta cryoextract under similar experimental conditions in female rats without changes in hormonal status was accompanied by 34.5 % lower ( $p < 0.01$ )  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase activity in liver homogenates than in female rats that were not administered the specified cryoextract. The activity of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase in liver homogenates was 45.8 % lower ( $p < 0.01$ ) in female rats after ovariectomy, which were injected with

placenta cryoextract, compared to the indicators of females that were not given the specified cryoextract.

The established anti-ulcer and hepatoprotective activity of the cryoextract of the placenta substantiates the feasibility of conducting further preclinical and clinical studies with the aim of expanding the indications for the use of the studied extract, in particular in gastroenterology and hepatology.

The combined use of anti-ulcer drugs and placenta cryoextract against the background of chronic ethanol-tetrachloromethane liver damage showed gender-determined differences. Thus, in male rats without a change in hormonal status, a 1.6-fold decrease ( $p < 0.001$ ) in bilirubin content (43.1 %) was demonstrated than in female rats (27.4 %). Administration of placenta cryoextract under similar experimental conditions in female rats without changes in hormonal status was accompanied by 34.5 % lower ( $p < 0.01$ )  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase activity in liver homogenates than in female rats that were not administered the specified cryoextract. The activity of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase in liver homogenates was 45.8 % lower ( $p < 0.01$ ) in female rats after ovariectomy, which were injected with placenta cryoextract, compared to the indicators of females that were not given the specified cryoextract.

*Scientific novelty of the obtained results.* For the first time, the mechanisms of antiulcer activity of cryoextract of the placenta under prophylactic, curative and curative-prophylactic modes of use were investigated on models of alcohol-prednisolone, stress, serotonin and acetic acid gastric lesions in rats. The effects of the combined use of drugs of triple anti-ulcer therapy and cryoextract of the placenta were studied in comparison with monotherapy with antiulcerogenic agents. For the first time, the effect of the combined use of triple anti-ulcer therapy and placenta cryoextract on the course of experimental chronic tetrachloromethane-induced hepatitis with background ethanol-induced liver cirrhosis was studied, and the role of sexual factors in the mechanisms of gastro- and hepatoprotective activity of placenta cryoextract was studied.

The established anti-ulcer and hepatoprotective activity of the cryoextract of the placenta substantiates the feasibility of conducting further preclinical and clinical studies with the aim of expanding the indications for the use of the studied extract, in particular in gastroenterology and hepatology.

*The practical significance* of the obtained results lies in the fact that the researched provisions set forth in the dissertation have a theoretical and applied orientation and can be used in:

- *educational process* – as a basis for expanding information about modern antiulcer and hepatoprotective drugs in the teaching of pharmacology, clinical pharmacology and internal medicine, in particular gastroenterology, by introducing the obtained information into the scientific process of the relevant departments of medical and pharmaceutical institutions of higher education;
- *practical activities of health care institutions* regarding the expansion of indications for the medical use of placenta cryoextract;
- *research activities* – to conduct further in-depth scientific studies of the antiulcer and hepatotropic effects of placenta cryoextract.

*Key words:* gastric ulcer, ulcer index, water-immobilization stress, gastroprotection, hepatoprotective chart, ethane cirrhosis, proton pump inhibitors, cryoextract of placenta, antiulcer activity, gastric mucosa, alcohol-prednisolone ulcer, trunk cryodenervation of the stomach, tetrachloromethane hepatitis, gastric secretion, *Helicobacter pylori*.