

Original researches

Regenerative processes during model gastric ulcer in laboratory rats when using Humilid

A. Y. Lisna, L. M. Stepchenko

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Received: 22 November 2021
Revised: 06 December 2021
Accepted: 20 December 2021

Dnipro State Agrarian and Economic
University, Sergii Efremov Str., 25, Dnipro,
49600, Ukraine

Tel.: +38-095-475-04-91
E-mail: alisa.lisna1@gmail.com

Cite this article: Lisna, A. Y., & Stepchenko, L. M. (2021). Regenerative processes during model gastric ulcer in laboratory rats when using Humilid. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 9(4), 173–181. doi: 10.32819/2021.94026

Abstract. A gastric ulcer caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs is the second most common after *Helicobacter pylori* in both humane and veterinary medicine. The urgent need to find alternative drugs that had a minimum number of side effects led to the use of a model pathology that mimics a stomach ulcer. The article presents the results of a study of the effect of Humilid on the healing processes of a model gastric ulcer induced by Ibuprofen, a non-steroidal anti-inflammatory drug. The study lasted 21 days. It was found that Ibuprofen at a dose of 400 mg/kg on the 3rd day of the experiment caused damage to the gastric mucosa, namely an ulcer, demonstrated by both macroscopic and histological examination. In the animals of the group where Humilid (5 mg/kg) was used against the background of Ibuprofen-induced ulcers, on day 21 of the experiment, the ulcer score (*Ulcer score*) was 94% lower ($P < 0.001$) compared to the ulcer score of the same group by 3 - e day of the experiment. And in animals of the group where the ulcer was formed, but Humilid was not used, the difference in ulcer scores on day 21 of the experiment was 81% ($P < 0.001$) compared to the ulcer score in rats receiving Humilid. A histological study showed that in animals of the group receiving Humilid, such indicators as desquamation of the epithelium, erosive and ulcerative destruction, stromal oedema and inflammatory infiltration were 56%, 62%, 30% and 60% ($P < 0.001$) lower, respectively, compared to with a group of model pathology, where it was not received. Thus, it was found that with Ibuprofen-induced gastric ulcer, including Humilid in the general diet of animals in the experimental group, accelerates and improves regenerative processes, namely, the healing of stomach ulcers.

Keywords: Humilid; Ibuprofen; regeneration; laboratory rats; histological examination; stomach ulcer

Регенеративні процеси за модельної виразки шлунка у лабораторних щурів при застосуванні Гуміліда

А. Ю. Лісна, Л. М. Степченко

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Анотація. Виразка шлунка викликана нестероїдними протизапальними препаратами – друга за поширенням після *Helicobacter pylori* як в гуманій, так і ветеринарній медицині. Нагальна потреба у пошуку альтернативних лікарських засобів, які б мали мінімальну кількість побічних ефектів привела до використання модельної патології, яка б імітувала виразку шлунка. Наведено результати дослідження впливу Гуміліда на процеси загоєння модельної виразки шлунка індукованої Ібупрофеном – нестероїдним протизапальним препаратом. Протягом дослідження, яке тривало 21 добу встановлено, що Ібупрофен у дозі 400 мг/кг на третю добу експерименту викликав ураження слизової оболонки шлунка, а саме виразку, що було продемонстровано як макроскопічним, так і гістологічним дослідженням. У тварин групи, де застосовували Гумілід (5 мг/кг) на тлі Ібупрофен-індукованої виразки на 21-шу добу експерименту спостерігався нижчий на 94 % ($P < 0,001$) бал виразки (*Ulcer score*) порівняно з балом виразки цієї ж групи на третю добу експерименту. У тварин групи, де була сформована виразка, але Гумілід не застосовувався, різниця балів виразки на 21-шу добу експерименту складала 81 % ($P < 0,001$) порівняно з балом виразки у щурів, які отримували Гумілід. Гістологічним дослідженням показано, що у тварин групи, які отримували Гумілід десквамація епітелію, ерозивно-виразкова деструкція, набряк строми та запальна інфільтрація були відповідно на 56, 62, 30 та 60 % ($P < 0,001$) нижчі, порівняно з групою модельної патології, де його не отримували. Встановлено, що при Ібупрофен-індукованій виразці шлунка, включення Гуміліда до загального раціону тварин експериментальної групи, пришвидшує та покращує регенеративні процеси, а саме загоєння виразок шлунка.

Ключові слова: Гумілід; регенерація; Ібупрофен; лабораторні щури; гістологічне дослідження; виразка шлунка

Вступ

Регенерація – це одна з рис живих організмів, яка направлена на відновлення їх структур у процесі життєдіяльності. Вона відбувається регулярно, тобто оновлення тканин чи клітин проходить неодноразово протягом усього життя організму, що направлено на підтримання гомеостазу тканин, і така регенерація є фізіологічною. Відповіддю на пошкодження тканин або навіть втрату частин тіла буде репаративна регенерація. Важливо, що рушієм фізіологічної регенерації є постійна підтримка функціонального гомеостазу організму, тоді як репаративна регенерація викликається сигналами травм (Iismaa et al., 2018).

Захворювання шлунково-кишкового тракту займають досить велику нішу серед захворювань інших систем організму. А виразка шлунка – розповсюджена патологія травної системи як у ветеринарній, так і в гуманній медицинах. Підвищений інтерес до вивчення нової противиразкової терапії викликав необхідність використання експериментальних моделей виразок, індукованих у різних лабораторних видів тварин (Fulga et al., 2019).

Пептичні виразки в модельних експериментах можуть бути викликані фізіологічними методами: гіпотермія або водно-стримучий стрес; хірургічними: лігування пілоруса; фармакологічними агентами: етанол, оцтова кислота, гістамін, серотонін, нестероїдні протизапальні препарати (аспірин, індометацин, фенілбутазон) та стероїдні лікарські засоби: преднізолон, дексаметазон (Hernández-Díaz & Rodríguez, 2001). Однією з поширених і детально описаних у літературі моделей виразок шлунка є індукована нестероїдними протизапальними засобами (Wallace et al., 2000; Lim et al., 2019; Simões et al., 2019), що пояснюється їх широким застосуванням в якості знеболюючих, жарознижуючих і протизапальних засобів.

Відомо, що нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), зокрема ібупрофен, індометацин та аспірин, викликають виразку шлунка, особливо при надмірному застосуванні. Це явище використано при розробці моделей виразки шлунка, спричинених НПЗП, у щурів. Модель важлива для дослідження потенційної можливості застосування антисекреторних і цитопротекторних засобів у терапії виразок шлунка, у тому числі внаслідок прийому НПЗП як у ветеринарній, так і гуманній медицині, оскільки основна патофізіологія виразки шлунка включає порушення рівноваги між факторами захисту та факторами агресії (ваги Н. Say D.C.H. Sun). Ця модель із застосуванням НПЗП є однією з найбільш використовуваних моделей виразки шлунка, в тому числі у дослідженнях препаратів для профілактики та лікування виразок. Популярність використання цієї моделі можна пояснити тим фактом, що індуковані НПЗП пептичні виразки – другі за поширеністю серед інших пептичних виразок, крім тих, що викликані *Helicobacter pylori* (Bergh & Budsbergh, 2005; Wallace, 2008; Adinortey, 2013).

НПЗП індукують виразку шляхом інгібування простагландинсинтетази в циклі циклооксигенази (Rainsford, 1987). Простагландини знаходяться у багатьох тканинах, включаючи шлунок, де вони відіграють життєво важливу захисну роль, стимулюючи секрецію бікарбонату та слизу, підтримуючи кровотік слизової оболонки, регулюючи відновлення клітин слизової оболонки (Hayllar & Bjamason, 1995). Таким чином, блокуванням активності ферментів циклооксигенази (ЦОГ-1 та ЦОГ-2) призводить до зменшення секреції слизу та бікарбонату, зменшення кровотоку у слизовій оболонці, порушення агрегації тромбоцитів, зміни структури мікросудин, що веде до пошкодження епітелію, зменшення ангиогенезу та збільшення адгезії лейкоцитів (Wallace et al., 2000). Збільшення вироблення активних форм кисню (АФК), збільшення перекисного окислення ліпідів та інфільтрація нейтрофілів також відіграють роль у окислювальному пошкодженні слизової НПЗП (Whittle, 2003; Lamarque, 2004). Звідси, НПЗП, включаючи ібупрофен, відомі як основні чинники виразки шлунка (Jainu & Devi, 2004; Kim et al., 2011).

Реєстрацію змін post-mortem, при підозрі на наявність виразки шлунка, можна проводити за допомогою декількох методів: макроскопічне дослідження, що проводиться неозброєним оком або з участю мікроскопа з мінімальним збільшенням (40×), при цьому відмічають стан внутрішньої поверхні слизової оболонки шлунка (наявність чи відсутність гіперемії, петехіальних крововиливів, ерозій). У числовому значенні для цього існує бал виразки (Cantarella et al., 2005, 2007). Гістопатологічне дослідження проводять з метою виявлення запалення, дегенеративних змін, десквамації та зменшення слизоутворення. Як і також можливо відображати у числовому значенні, використовуючи для цього модифіковану систему оцінки за Appleyard & Wallace, (1995) та MacAllister et al. (1997).

Корекцію та лікування виразок шлунка, зазвичай проводять загальноприйнятими стандартними медичними препаратами, такими як антихолінергічні препарати, антагоністи гістамінових H₂-рецепторів (ранітидин), антациди, а останнім часом інгібітори протонної помпи (омепразол), але вони викликають багато побічних ефектів. В останні роки зростає інтерес до альтернативних методів корекції, які можливо проводити за допомогою біологічно активних речовин (БАР) різної природи, інтерес до яких за останні роки значно зріс (Anselmo, 2019). Природні сполуки з меншою кількістю побічних ефектів – більш придатні, ніж синтетичні препарати, для тривалого лікування уражень шлунка (Muhammad et al., 2014; Kim et al., 2019).

На процеси регенерації діють речовини з противиразковими властивостями, які традиційно використовувалися для лікування виразок шлунка, в тому числі індукованих НПЗП. Існують свідчення щодо застосування наступних природних біологічно активних речовин (БАР): мед мануки (Almasaudi et al., 2016; Fazalda et al., 2018), різноманітні екстракти лікарських рослин (Bi et al., 2014; Werawatganon et al., 2014; Boeing et al., 2016), шиладжит або мумійо (Ghasemkhani et al., 2021). Одним з потенційних БАР, яким можливо впливати на загоєння слизової шлунково-кишкового тракту є гумінові кислоти, які відносяться до групи поліфенольних сполук з великою кількістю функціональних груп, залежно від сировини із якої вони вилучаються. Додатки з гуміновими кислотами володіють імуностимулюючими, імуномодуляторними, протизапальними, адаптогенними властивостями і здатні впливати на різні рівні метаболізму та біохімічні процеси (Stepchenko et al., 1991; Stepchenko et al., 2019; Harashchuk et al., 2021). Доведено, що гумінові речовини володіють антиоксидантними властивостями, що зумовлено великою кількістю функціональних груп (Stepchenko & Skorik, 2006; Dyomshyna, 2021). Протизапальну дію гумінових речовин підтверджено дослідженнями Schewe et al. (1991). Гумінові речовини інгібують ліпоксігеназний шлях каскаду арахідонової кислоти (АК). А в свою чергу АК є невід'ємною частиною клітинної мембрани і субстратом для синтезу медіаторів запалення на основі ейкозаноїдів, таких як лейкотрієни, тромбоксан і простагландин (Klöcking & Helbig, 2005). Крім того гумінові кислоти покращують загоєння шкірних ран і проявляють антибактеріальні властивості та впливають на загоєння слизової оболонки ротової порожнини (Yuanquan et al., 2016; Çalışır, 2018). Однак нині існує обмежена кількість досліджень впливу гумінових речовин на загоєння слизової оболонки травного каналу, а також їх одночасна системна дія (Gurel et al., 2021)

Біологічно активною кормовою добавкою на основі гумінових речовин, яка володіє антиоксидантними, антибактеріальними властивостями та прискорює загоєння ран є Гумілід (ТУ У 15.7-00493675-004:2009). Ця біологічно активна кормова добавка розроблена у науково-дослідній лабораторії з гумінових речовин ім. проф. Л. А. Христевої Дніпровського державного аграрно-економічного університету (Україна).

Мета дослідження – виявити вплив біологічно активної кормової добавки Гумілід на макроскопічний і мікроскопічний про-

яв регенеративних процесів у тканинах шлунка щурів з Ібупрофен-індукованою модельною виразкою шлунка.

Матеріал і методи досліджень

Усі маніпуляції з тваринами, які використовуються в експериментальних і наукових цілях, проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986 р.). Маніпуляції з тваринами проводили за рекомендаціями PolLASA (Polish Laboratory Animal Science Association) на базі віварію Дніпровського державного аграрно-економічного університету (Україна). Методика досліджень схвалена етичним комітетом Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Дослідження впливу біологічно активної кормової добавки Гумілід на ступінь і швидкість загоєння ерозивних пошкоджень шлунка зумовлених Ібупрофеном проводили на білих статевозрілих (6–7 тижнів) молодих щурах-самцях масою тіла 180–200 г. Тварини утримували у віварії Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Дослідження тривало 21 добу. Протягом усього експерименту щури перебували в стандартних умовах, з вільним доступом до води та збалансованого корму. На початок експерименту усі тварини були поділені на чотири групи по 16 тварин у кожній: I група – інтактні тварини (контроль); II група – щури отримували водний розчин Гуміліда; III і IV групи – дослідні, в яких у щурів моделювали виразку шлунка за допомогою Ібупрофена. Щурам III і IV дослідних груп після 48 годинної «голодної дієти» перорально за допомогою орогастрального зонду був введений розчин Ібупрофену у розрахунку 400 мг/кг маси тіла (Djahanguiri, 1969; Bhargava et al., 1973; Adinortey et al., 2013). Розчин Ібупрофену готували шляхом розчинення вмісту 400 мг капсул у дистильованій воді безпосередньо перед задаванням його тваринам дослідних груп. Після цього, через 48 годин у 8 тварин із кожної групи після еутаназії під тіопенталовим наркозом, були відібрані кров і шлунки. Далі у кожній із груп залишилося по 8 тварин. Щури I та III групи отримували очищену воду; щури II та IV групи – отримували водний розчин кормової добавки Гумілід (ТУ У15.7-00493675004, 2009) у розрахунку 5 мг/кг маси тіла за діючою речовиною. На 21 добу у щурів усіх груп відбирали кров із правого шлуночка серця під тіопенталовим наркозом (60 мг/кг) та шлунки. Схема постановки експерименту відображена у таблиці 1.

Відповідно схемі досліду на третю і 21-шу добу у щурів усіх груп спочатку проводили макроскопічне візуальне дослідження слизової оболонки шлунка на наявність уражень із визначенням ступеня виразки, яку виражали в балах (Ulcer Score) згідно відповідних критеріїв (табл. 2) (Cantarella et al., 2005, 2007).

Макроскопічне і гістологічне дослідження ділянки слизової оболонки дна шлунка проводили у експериментальних щурів усіх груп на третю і 21-шу добу з метою оцінки дії Гуміліду. Мікроскопічно оцінювали: товщину слизової оболонки, співвідношення шарів слизової, слизоутворення, запальні зміни, наявність чи відсутність ерозій. Застосовували критерії гістологічного оцінювання пошкоджень (табл. 3) (Appleyard & Wallace, 1995; MacAllister et al., 1997). Для цього ділянки слизової оболонки дна шлунка витримували у 10% розчині нейтрального формаліну, який забезпечує порівняно якісну фіксацію шматочків тканин і окремих клітин. Після фіксації (час фіксації

Таблиця 1 – Схема постановки експерименту

Фактори впливу	Групи тварин			
	I	II	III	IV
Гумілід 5 мг/кг	-	+	-	+
Ібупрофен 400 мг/кг	-	-	+	+

Таблиця 2 – Критерії макроскопічного оцінювання слизової оболонки шлунка для розрахунку балу виразки (за Cantarella et al., 2005, 2007).

Оцінка	Критерій
0.0	Відсутність пошкоджень
0.5	Дифузна гіперемія
1.0	1–2 маленькі ерозії
1.5	Від 3 до 6 невеликих* ерозій
2.0	Від 7 до 10 невеликих ерозій
2.5	Більше 10 невеликих ерозій
3.0	1 значна** ерозія + 0–4 невеликих ерозій
3.5	1 значна ерозія + 5 або більше невеликих ерозій
4.0	2 значні ерозія + 0–4 невеликих ерозій
4.5	2 значні ерозії + 5 або більше невеликих ерозій
5.0	3 або більше значних ерозій

Примітка: * – невелика виразка < 2 мм; ** – значна виразка ≥ 2 мм.

Таблиця 3 – Критерії гістологічної оцінки пошкоджень слизової оболонки шлунка

Оцінка	Критерій
0, 1, 2 або 3 (відсутня, середня, сильна)	Десквамація епітелію
0, 1, 2 або 3 (відсутня, середня, сильна)	Ерозивно-виразкова деструкція
0, 1, 2 або 3 (відсутня, середня, сильна)	Глибина ураження
0, 1, 2 або 3 (відсутній, середній, сильний)	Набряк
0, 1, 2 або 3 (відсутня, середня, сильна)	Запальна інфільтрація
0, 1, 2 або 3 (відсутнє, середнє, сильне)	Слизоутворення

тканин – 1–2 доби) проводили дегідратацію (зневоднення об'єктів у абсолютизованому ізопропанолі) і заливку в парапласт; виготовляли зрізи товщиною 4–5 мкм; забарвлювали препарати гематоксиліном і еозином (Merkulov, 1969). Для гістологічного дослідження використовували мікроскоп Zeiss “Primo Star”, фотографії робили фотокамерою DCM 500 за збільшення × 100.

Статистичну обробку експериментальних результатів для визначення біометричних показників здійснювали з використанням програми Microsoft Excel 10.0. Результати вважали вірогідними за P ≤ 0,05. У таблицях дані наведені у вигляді середніх значень та їх стандартних похибок (M ± m).

Результати

На третю добу експерименту, після еутаназії щурів за макроскопічного огляду шлунків, розрізаних по великій кривизні, встановили, що у щурів I і II груп, макроскопічно слизова оболонка виглядала інтактною, без жодних видимих ушкоджень, помірно зволожена та блідо-рожевого кольору (рис. 1). У щурів III і IV груп після застосування Ібупрофену (400 мг/кг) порівняно з I і II групами відмічали макроскопічні зміни на слизовій оболонці шлунка: наявність петехіальних крововиливів, тотальну гіперемію, в складках слизової – виявлені ділянки ерозій.

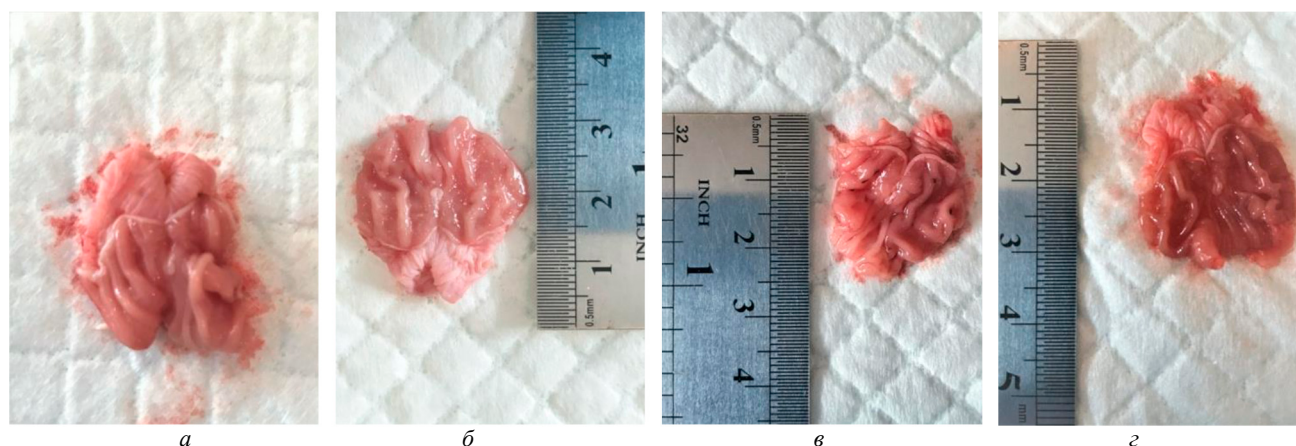


Рис. 1. Макроскопічні зміни слизової оболонки шлунка щурів на третю добу експерименту:

a – інтактна слизова оболонка шлунка, I група (контрольна); *б* – інтактна слизова оболонка шлунка, II група (Гумілід 5 мг/кг); *в* – слизова оболонка з крововиливами, III група (Ібупрофен 400 мг/кг); *г* – тотальна гіперемія слизової оболонки шлунка, IV дослідна група (Ібупрофен 400 мг/кг + Гумілід 5 мг/кг).

Це також кількісно відображалось у балах згідно розрахунку оцінки ступеня ураження (Ulcer Score) слизової оболонки шлунка на третю і 21-шу добу дослідження (табл. 4). Так, згідно отриманих результатів, у I і II групах, де відповідно Ібупрофен не застосовували, бал виразки як на третю, так і на 21-шу добу склав 0. У той же час в експериментальних групах (III і IV), застосування Ібупрофена (400 мг/кг) на третю добу викликало значне збільшення балу виразки ($P < 0,001$) і він майже не відрізнявся у тварин III та IV групи. Цей факт підтверджує, що Ібупрофен у застованій кількості викликає зміни, характерні для виразки шлунка. На 21-у добу досліджень у тварин III групи бал виразки був нижчим на 72% ($P < 0,001$) порівняно з цим показником на третю добу. Цей факт може вказувати на процес активації процесу самозагоєння виразок протягом 18 діб. У лабораторних щурів IV групи на 21-у добу бал виразки був нижчим на 94% ($P < 0,001$) ніж на третю добу. Тобто на 21-у добу різниця балів, які характеризують наявність виразки між III і IV групами склала 81% ($P < 0,001$). Це може свідчити про те, що при застосуванні добавки гумінової природи Гумілід у IV групі, швидкість регенеративних процесів збільшилась, порівняно з тваринами III групи з індукованою виразкою, де Гумілід не застосовували.

Після виявлення змін слизової оболонки шлунка щурів на макроскопічному рівні, проводили її гістологічне дослідження, на третю і 21-шу добу дослідження (Рис. 2). Так на третю добу виявлено, що слизова оболонка залозистої частини шлунка щурів із I (інтактний контроль) та II груп, у ділянці дна була вистелена епітелієм, клітини якого мали помірно високу циліндричну форму. При цьому спостерігали, що залози дна (власні) були розташовані щільно та типово. Слизові клітини займали, головним чином, початкову частину тіла залози поблизу шийки, цитоплазма їх була світла, секрет – слабобазофільний. У

той же час, парієтальні клітини, секретуючі соляну кислоту, за кількістю превалювали над іншими залозистими клітинами, цитоплазма їх була доволі еозинофільна. Головні клітини переважали у базальних відділах залоз. Цитоплазма їх містила білкові гранули, що фарбувалися гематоксиліном. Строма слизової була помірно повнокровна, містила варіабельну кількість лімфоцитів та еозинофільних клітин. У шийному відділі власних залоз мали місце недиференційовані (камбіальні) епітеліоцити і нейроендокринні клітини (рис. 2*a*). Тобто на третю добу стан дна шлунка щурів I і II груп відповідав усім параметрам норми і не мав ніяких відхилень (рис. 2*a, б*).

Гістологічна картина слизової оболонки шлунка щурів III і IV груп (Ібупрофен 400 мг/кг) на третю добу експерименту відрізнялася від такої у I та II груп (рис. 3). Так, у гістологічних препаратах шлунків щурів III і IV груп виявляли поодинокі крововиливи, набряк і повнокрів'я підслизового шару (рис. 3*a, б, в*). А у слизовій оболонці дна визначали нерівномірне, виражене зниження слизоутворення. Поверхневі епітеліальні клітини були сплюснені, апікальні їх відділи значно збіднені на мукоїдний секрет, виявляли злущування покривного епітелію з формуванням ерозій. У додаткових клітинах фундальних залоз шлунка тварин III і IV груп спостерігали виражене зниження слизоутворення порівняно з щурами I та II груп. У деяких ділянках зберігалось незначне слизоутворення у фовеолярному шарі й шийкових відділах залоз.

На тлі пригнічення слизоутворення, в середній третині слизової оболонки шлунків щурів III і IV груп формувалися осередки некрозу, спостерігалися явища стази в капілярах, крововиливи і фібриноїдні зміни в стромі. Часто зустрічалися гострі ерозивно-виразкові дефекти різної глибини, яка досягала до $\frac{1}{2}$ – $\frac{2}{3}$ товщини слизової оболонки, іноді, досягаючи м'язової пластинки (рис. 3*a, б*).

Таблиця 4 – Динаміка балів макроскопічного пошкодження слизової оболонки шлунка щурів при індукованій виразці за дії Гуміліду ($M \pm m$, $n = 8$, тривалість експерименту 21 доба) за Cantarella et al., 2005, 2007.

Показник	Доба	Група I (інтактні)	Група II (Гумілід)	Група III (індукована виразка)	Група IV (індукована виразка + Гумілід)
Індекс виразки	3	0	0	$3,56 \pm 0,199^{***\#\#}$	$3,50 \pm 0,231^{***\#\#}$
	21	0	0	$1,00 \pm 0,134^{***}$	$0,19 \pm 0,091^{***\#\#}$

Примітка: *** – $P < 0,001$, різниця вірогідна порівняно з показниками у тварин I групи (інтактною); $\#\#\#$ – $P < 0,001$, різниця вірогідна порівняно з показниками у тварин з групи II (Гумілід); $\#\#\#$ – $P < 0,001$, різниця вірогідна між показниками тварин дослідних групам III і IV групами.

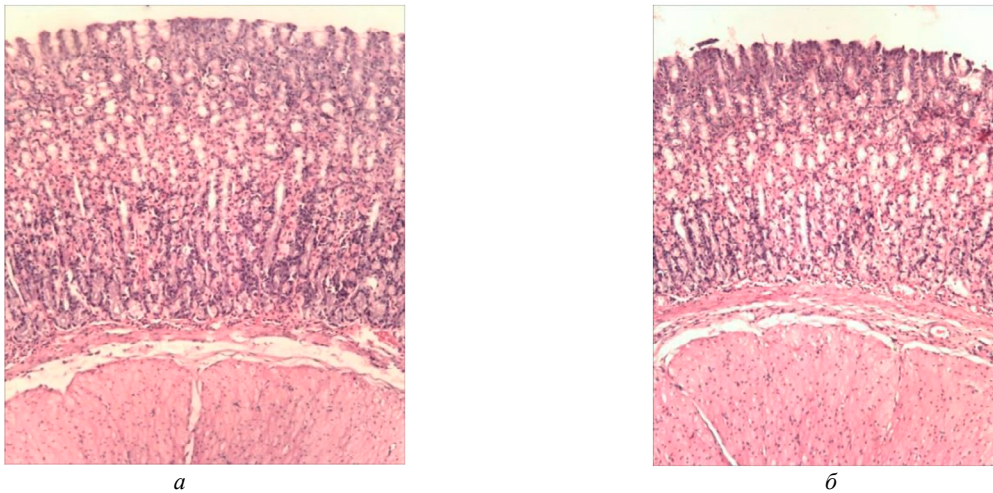


Рис. 2. Гістопрепарат фундального відділу слизової оболонки шлунку щурів на третю добу: а – I (інтактної) групи; б – II група (Гумілід 5 мг/кг). Забарвлення гематоксилін і еозин, $\times 100$

Також у III та IV групах власна і м'язова пластинки та підслизова основа в зоні безпосереднього ураження слизової оболонки були набряклі, з дифузно-вогнищевою лімфоїдною інфільтрацією всієї слизової оболонки. Так само, в фундальному відділі зустрічалися поодинокі некротично-виразкові дефекти слизової оболонки, які глибиною сягали м'язової пластинки

Таким чином, на основі аналізу макро- і мікроскопічних змін слизової оболонки шлунків за умов введення щурам III і IV груп Ібупрофену (400 мг/кг) був зареєстрований розвиток гострого ерозивно-виразкового ураження шлунка.

На 21-у добу у тварин I і II груп мікроскопічна картина препаратів фундального відділу слизової оболонки шлунку майже не змінилася.

У той же час на 21-у добу у слизовій оболонці дна шлунка щурів III групи з Ібупрофеном-індукованим гострим ерозивно-виразковим ураженням шлунка без лікування визначалось зниження слизоутворення клітинами покривного і ямкового епітелію порівняно з контрольною групою. Необхідно підкреслити, що просвіт залоз у всіх відділах слизової оболонки шлунка щурів III групи був нерівномірно розширений. Відмічена значна десквамація покривного епітелію і нерівномірно виражене зниження висоти епітеліоцитів (рис. 4 а). У препаратах

фундального відділу слизової оболонки шлунка щурів III групи зустрічались поверхневі ерозії з ознаками епітелізації, спостерігались ділянки з ознаками помірної атрофії слизової оболонки та лімфоїдною інфільтрацією м'язової пластинки і підслизової основи, на деяких ділянках слизової оболонки зберігався різного ступеня набряк строми і зони зменшення слизоутворення, де відзначалася помірна дифузно-вогнищева лімфоїдна інфільтрація власної і м'язової пластинки та підслизової основи (рис. 4 б). На деяких ділянках виявляли поодинокі глибокі щілиноподібні ерозивні дефекти слизової оболонки з частковою епітелізацією (рис. 4 в).

У той же час у щурів IV групи, що отримувала Гумілід (5 мг/кг) спостерігали поліпшення стану структур слизової оболонки шлунка, порівняно з III групою (рис. 5 а, б, в). У досліджених ділянках дна шлунка вже не реєстрували глибокі ерозивні пошкодження слизової оболонки. Виявляли незначне злущування покривного епітелію і нерівномірно виражене зниження висоти покривних клітин. Слизоутворення клітинами покривного і ямкового епітелію було знижене, а клітинами власних залоз, особливо в шийкових відділах на більшості ділянок було достатнім, або підвищеним. Просвіт залоз у всіх відділах слизової оболонки був нерівномірно помірно розширений (рис. 5б).

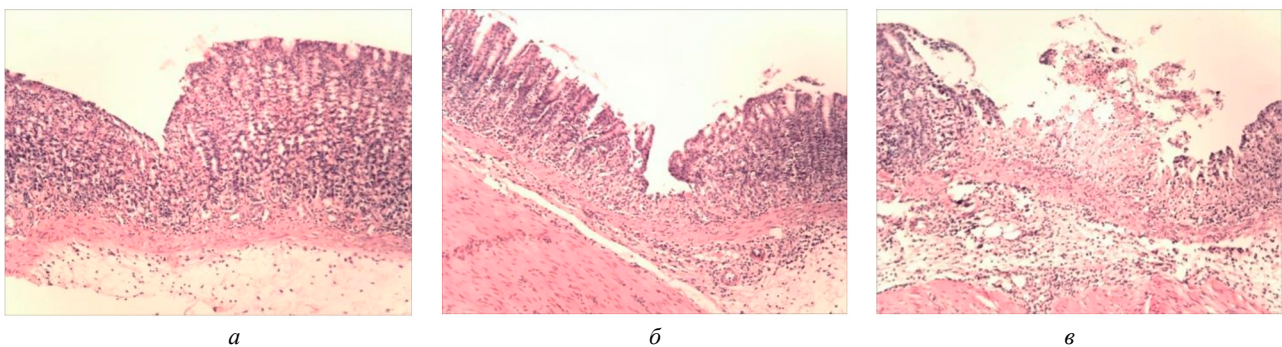


Рис. 3. Препарат фундального відділу слизової оболонки шлунка щура групи модельної патології (Ібупрофен 400 мг/кг) на третю добу: а – ерозія до $\frac{1}{2}$ товщини слизової оболонки, набряк підслизової основи; б – формування виразкового дефекту, дифузно-вогнищева лімфоїдна інфільтрація основної пластинки, м'язової пластинки і підслизової основи; в – гостра виразка, набряк підслизової основи, дифузна лімфоїдна інфільтрація власної пластинки, м'язової пластинки й підслизової основи. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$.

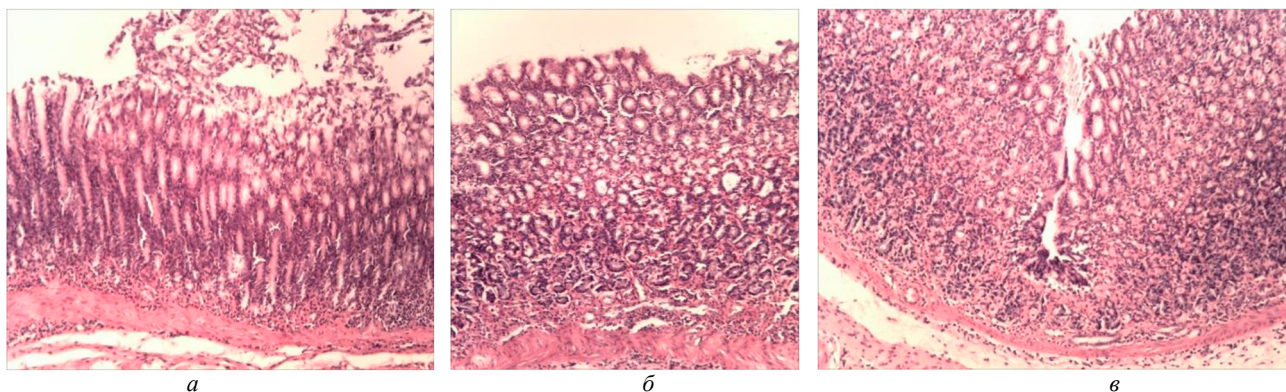


Рис. 4. Препарат фундального відділу слизової оболонки шлунку щура III групи на 21-у добу:

a – виражена десквамація покривного епітелію; *б* – ділянка зменшення слизоутворення, епітелізована поверхнева ерозія, ознаки атрофії залоз, помірна лімфоїдна інфільтрація м'язової пластинки і підслизової основи; *в* – глибока щілиноподібна ерозія. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 100$.

Зустрічалися поодинокі поверхневі ерозії з ознаками епітелізації, на деяких ділянках слизової оболонки зберігався різного ступеня набряк стромі і зони зменшення слизоутворення, де виявлялася незначна дифузно-вогнищева лімфоїдна інфільтрація власної і м'язової пластинок і підслизової основи.

Для більшої наочності і зручності порівняння, зміни гістологічної картини в структурах слизової оболонки шлунка щурів різних груп можна оцінити кількісним методом, застосовувавши підрахунок гістологічних критеріїв пошкодження (табл. 5).

На 21-у добу експерименту, десквамація епітелію у тварин IV групи була на 56% ($P < 0,001$) нижчою порівняно з показниками у тварин III групи. При цьому ерозивно-виразкова деструкція на 62% ($P < 0,001$) вища у щурів III групи, порівняно з IV групою. Глибина ураження склала $2,63 \pm 0,183$ ($P < 0,001$) і цей показник відмічався лише у щурів III групи. Набряк стромі слизової оболонки шлунка щурів III групи був майже на 30% ($P < 0,001$) вищим ніж у щурів IV групи. А показник запальної інфільтрації у щурів III групи склав на 60% ($P < 0,001$) більше порівняно з IV групою.

Отже, слід зазначити, що за підсумками результатів макро- і гістологічного досліджень шлунків щурів IV групи, у яких була індукована виразка (Ібупрофен 400 мг/кг) та які отримували Гумілід 5 мг/кг процеси загоєння, епітелізації були ефективнішими та швидшими порівняно зі щурами III групи, де Гумілід не застосовували. Також можна відмітити, що слизоутворення у щурів II групи, які отримувала Гумілід, без індукції виразки,

було на 13% вищим порівняно з контрольною групою на кінець експерименту, що може свідчити про гастропротективну дію гумінових речовин.

Обговорення

У щурів IV дослідної групи, яким вводили Гумілід у лікувальному режимі на тлі модельної виразки шлунка, викликаній Ібупрофеном (400 мг/кг), на кінець експерименту, відмічали значне поліпшення стану слизової оболонки шлунка порівняно зі щурами III групи, що підтверджується декількома показниками. Так, на макроскопічному рівні індекс виразки в групі, де щури отримували Гумілід був нижчим, ніж у щурів, які його не отримували. Також гістологічним дослідженням, на кінець експерименту встановлено, що у щурів IV групи запальна інфільтрація власної і м'язової пластинок та підслизової основи слизової оболонки була нижчою, ніж у щурів III групи. Це можна пояснити протизапальним ефектом застосування речовин гумінової природи (Joone & van Rensburg, 2004; Vucskits et al., 2010a; Vucskits et al., 2010b; Van Rensburg, 2015) і в цьому випадку Гуміліду, оскільки хронічне запалення буде перешкоджати вчасному і якісному загоєнню та регенерації тканин (Guo & Di Pietro, 2006).

Слизоутворення, що є показником якості протекції слизової оболонки від агресивної соляної кислоти, у групі щурів, що отримувала Гумілід був на рівні з інтактними щурами (контрольна

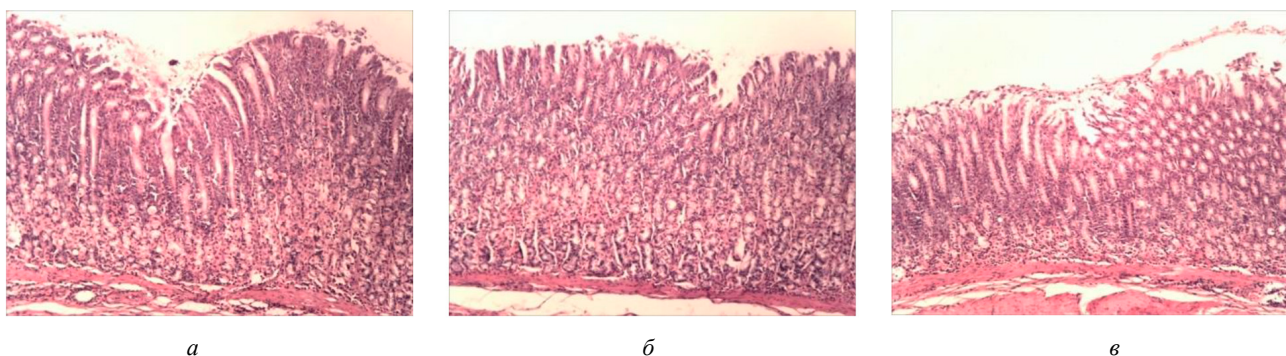


Рис. 5. Препарат фундального відділу слизової оболонки шлунку щура IV групи на 21-у добу (Гумілід 5 мг/кг):

a – епітелізація поверхневої ерозії, незначна дифузно-вогнищева лімфоїдна інфільтрація власної і м'язової пластинок, підслизової основи; *б* – епітелізація ерозії, глибиною до $\frac{1}{2}$ товщини слизової оболонки; *в* – епітелізація поверхневої ерозії. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 100$.

Таблиця 5 – Кількісна оцінка впливу Гуміліда (5 мг/кг) на інтенсивність прояву патологічного процесу в ділянках слизової оболонки шлунків щурів при модельній Ібупрофен-індукованій виразці на 21-у добу ($M \pm m$, $n = 8$, тривалість експерименту 21 доба) за Appleyard & Wallace, 1995; MacAllister et al., 1997.

Група	Ознака					
	десквамація епітелію	ерозивно-виразкова деструкція	глибина ураження	набряк	запальна інфільтрація	слизоутворення
Група I (інтактні)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,38 ± 0,183
Група II (Гумілід)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,75 ± 0,164 [§]
Група III (індукована виразка)	2,88 ± 0,125 #####	2,63 ± 0,183 #####	2,50 ± 0,189 #####	1,25 ± 0,164 #####	1,88 ± 0,227 #####	2,25 ± 0,164
Група IV (індукована виразка + Гумілід)	1,25 ± 0,164 #####	1,00 ± 0,189 #####	0,00	0,88 ± 0,227 ###	0,75 ± 0,164 #####	2,38 ± 0,183

Примітка: ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$, вірогідна різниця в межах однієї ознаки порівняно з групою I; # – $P < 0,01$; ### – $P < 0,001$, вірогідна різниця в межах однієї ознаки порівняно з групою II (Гумілід); § – $P < 0,05$; §§§ – $P < 0,001$, вірогідна різниця в межах однієї ознаки порівняно з групою III (індукована виразка).

група). Слід зазначити, що у групі щурів, які отримували лише Гумілід протягом усього експерименту (II група) слизоутворення було навіть дещо підвищеним, порівняно як з контрольною групою, так і IV групою. Це може свідчити про гастропротективну властивість Гуміліду, що корелює з іншим дослідженням (Trckova et al., 2005).

Десквамація епітелію та ерозивно-виразкова деструкція були нижчими у групі щурів з модельною виразкою, які отримували Гумілід, ніж у щурів III групи, які його не отримували. Ймовірно гумінові речовини мають високу поверхневу активність, утворюючи таким чином захисну плівку на поверхні виразки, захищаючи її від кислоти шлунка. Тобто вони є сурфактантами (Klavins & Purmalis, 2010). Саме ця властивість гумінових речовин може сприяти подальшому загоєнню виразки.

Прискорення загоєння виразок і зменшення інтенсивності патологічного процесу у щурів IV групи також може бути пов'язано з іншими факторами, зокрема антибактеріальним ефектом гумінових кислот, які зменшують інфікування виразок (Ansorg & Rochus, 1978; Van Rensburg et al., 2000; Tikhonov et al., 2010).

Окислювальний стрес також один із факторів, який сприяє порушенню загоєння ран і регенерації тканин (Schafar & Warner, 2008), а антиоксидантні властивості гумінових речовин були неодноразово підтверджені дослідженнями різних науковців (Aeschbacher et al., 2012; Zyкова et al., 2018; Dyomshyna et al., 2017; 2021; Klein et al., 2021).

Іншим сприятливим фактором впливу гумінових кислот на регенерацію клітин постає їх властивість утворювати комплекси з мікроелементами та впливати на їх гомеостаз, у тому числі цинком і марганцем, які активують клітинний метаболізм, та є складовими життєво важливих ферментів, відповідальних за клітинне відновлення, а значить і пришвидшення загоєння виразок (Szabo et al., 2017; Hullar et al., 2018).

Загалом, результати цього дослідження показали, що гумінові речовини у вигляді біологічно активної кормової добавки Гумілід, покращували процеси регенерації шлункових виразок.

Висновки

За результатами проведених макро- та мікроскопічних досліджень встановлено, що Ібупрофен у дозуванні 400 мг/кг перорально на третю добу експерименту викликав модельну виразку шлунку в дослідних щурів. При цьому на 21-у добу дослідження у щурів на тлі застосування Гуміліду швидкість регенерації та епітелізації слизової оболонки шлунку була вищою, ніж у у тварин де його не застосовували. Це може свідчити, про

безпосередній вплив біологічної добавки гумінової природи на покращення процесів регенерації та загоєння виразок шлунку при застосуванні нестероїдних протизапальних препаратів.

References

- Adinortey, M. B., Ansah, C., Galyuon, I., & Nyarko, A. (2013). In vivo models used for evaluation of potential antigastrointestinal ulcer agents. *Ulcers*, 2013, 1–12.
- Aeschbacher, M., Graf, C., Schwarzenbach, R. P., & Sander, M. (2012). Antioxidant Properties of Humic Substances. *Environmental Science & Technology*, 46(9), 4916–4925.
- Ajayi, A. F., & Olaleye, B. S. (2020). Age-related changes in haematological parameters and biochemical markers of healing in the stomach of rats with acetic acid induced injury. *Toxicology Reports*, 7, 1272–1281.
- Almasaudi, S. B., El-Shitany, N. A., Abbas, A. T., Abdel-dayem, U. A., Ali, S. S., Al Jaouni, S. K., & Harakeh, S. (2016). Antioxidant, anti-inflammatory, and antiulcer potential of manuka honey against gastric ulcer in rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–10.
- Amosova, Ya. M., Kosyanova, Z. F., Orlov, D. S., Tikhomirova, K. S., & Shinkarenko, A. L. (1990). Humic acids in the therapeutic muds with a special reference to their physiological activity. *Kurortol. Fizioter*, 27(4), 1–6.
- Ansorg, A. C., Gokarn, Y., & Mitragotri, S. (2018). Non-invasive delivery strategies for biologics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(1), 19–40.
- Ansorg, R., & Rochus, W. (1978). Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirksamkeit von natürlichen und künstlichen Huminsäuren [Studies on the antimicrobial effect of natural and synthetic humic acids (author's transl)]. *Arzneimittel-Forschung*, 28(12), 2195–2198.
- Appleyard, C. B., & Wallace, J. L. (1995). Reactivation of hapten-induced colitis and its prevention by anti-inflammatory drugs. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 269(1), 119–125.
- Arnold, D. M., Kukawadia, S., Nazi, I., Esmail, A., Dewar, L., Smith, J. W., & Kelton, J. G. (2013). A systematic evaluation of laboratory testing for drug-induced immune thrombocytopenia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 11(1), 169–176.
- Aruin, L. I., Kapuller, L. L., & Isakov, V. A. (1998). Mofologicheskaja diagnostika boleznej zheludka i kishechnika. Triada-H. Moscow, 125–130 (in Russian).

- Bergh, M. S., & Budsberg, S. C. (2005). The coxib NSAIDs: potential clinical and pharmacologic importance in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(5), 633–643.
- Bhargava, K. P., Gupta, M. B., & Tangri, K. K. (1973). Mechanism of ulcerogenic activity of indomethacin and oxyphenbutazone. *European Journal of Pharmacology*, 22(2), 191–195.
- Bi, W.-P. (2014). Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: A review. *World Journal of Gastroenterology*, 20(45), 17020–17028.
- Blandizzi, C., Fornai, M., Colucci, R., Natale, G., Lubrano, V., Vassalle, C., Antonioli, L., Lazzeri, G., & Del Tacca, M. (2005). Lansoprazole prevents experimental gastric injury induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs through a reduction of mucosal oxidative damage. *World Journal of Gastroenterology*, 11(26), 4052–4060.
- Boeing, T., da Silva, L. M., Somensi, L. B., Cury, B. J., Michels Costa, A. P., Petreanu, M., Niero, R., & de Andrade, S. F. (2016). Antiulcer mechanisms of *Vernonia condensata* Baker: A medicinal plant used in the treatment of gastritis and gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology*, 184, 196–207.
- Buchko, O. (2014). Vil'noradykal'ni procesy j antyoksydantna systema organizmu svynej za dii' guminovoi' dobavky. *Visnyk Lvivskogo Universytetu*, 64, 90–96 (in Ukrainian).
- Çalışır, M., Akpınar, A., Talmaç, A. C., Lektür Alpan, A., & Göze, Ö. F. (2018). Humic acid enhances wound healing in the rat palate. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1(1), 1–6.
- Cantarella, G., Martinez, G., Cutuli, V. M., Loreto, C., D'Alcamo, M., Prato, A., Amico-Roxas, M., Bernardini, R., & Clementi, G. (2005). Adrenomedullin modulates COX-2 and HGF expression in reserpine-injured gastric mucosa in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 518(2-3), 221–226.
- Cantarella, G., Martinez, G., Di Benedetto, G., Loreto, C., Musumeci, G., Prato, A., Lempereur, L., Matera, M., Amico-Roxas, M., Bernardini, R., & Clementi, G. (2007). Protective effects of amylin on reserpine-injured gastric damage in the rat. *Pharmacological Research*, 56, 27–34.
- Coruzzi, G., Menozzi, A., & Dobrilla, G. (2004). Novel non-steroidal anti-inflammatory drugs: what we have learned from animal studies. *Current Drug Target -Inflammation & Allergy*, 3(1), 43–61.
- Diachenko, L. M., & Stepchenko, L. M. (2018). Erythrocyte system of rat blood during the application of fodder additives of humic nature for combined stress. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 6(3), 34–38.
- Djahanguiri, B. (1969). The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 4(3), 265–267.
- Dyomshina, O. O., Ushakova, G. O., & Stepchenko, L. M. (2017). The effect of biologically active feed additives of humilid substances on the antioxidant system in liver mitochondria of gerbils. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(2), 185–190.
- Dyomshyna, O.O., Stepchenko, L.M., Ushakova, G. (2021). The impact of the humate nature feed additives on the antioxidative status of erythrocytes, liver, and muscle in chickens, hens, and gerbils. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(5), 13202–13213.
- Fazalda, A., Quraisiah, A., & Nur Azlina, M. F. (2018). Antiulcer effect of honey in nonsteroidal anti-inflammatory drugs induced gastric ulcer model in rats: A systematic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1–12.
- Fulga, S., Pelin, A.-M., Ghiciuc, C. M., & Lupuşoru, E. C. (2019). Particularities of experimental models used to induce gastric ulcer. *ARS Medica Tomitana*, 25(4), 179–184.
- Galati, G., Tafazoli, S., Sabzevari, O., Chan, T. S., & O'Brien, P. J. (2002). Idiosyncratic NSAID drug induced oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions*, 142(1-2), 25–41.
- Ghasemkhani, N., Tabrizi, A. S., Namazi, F., & Nazifi, S. (2021). Treatment effects of Shilajit on aspirin-induced gastric lesions in rats. *Physiological Reports*, 9(7).
- Golbs, S., & Kühnert, M. (1983). Huminsäuren - anwendung in therapie, pro- und metaphylaxe in der veterinärmedizin1. *physikalische medizin, rehabilitationsmedizin, Kurortmedizin*, 35(03), 151–158.
- Guo S, Di Pietro LA, 2006. Factors affecting wound healing. *J Dent Res.*, 89: 219-29.
- Gurel, S. G., Sogut, I., Hurdag, C., Gurel, A., Tutar, A., & Cikler-Dulger, E. (2021). Effect of fulvic acid on gastric mucosa damage caused by chronic water avoidance stress. *Biotechnic & Histochemistry*, 1–8.
- Harashchuk, M. I., Stepchenko, L. M., Spitsina, T. L., & Goryaniy, V. R. (2021). Metabolism state in laboratory rats when using amaranth oil and Humilid. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 9(1), 30–34.
- Hayllar, J., & Bjarnason, I. (1995). NSAIDs, Cox-2 inhibitors, and the gut. *The Lancet*, 346(8974), 521–522.
- Hernandez-Diaz, S. (2001). Steroids and Risk of Upper Gastrointestinal Complications. *American Journal of Epidemiology*, 153(11), 1089–1093.
- Horalskiy, L. P., Khomych, V. T., & Kononsky, A. I. (2019). Histological techniques and morphological methods in normal and pathological conditions. *Zhitomir, Polissia* (in Ukrainian).
- Hullár, I., Vucskits, A. V., Berta, E., Andrásófszky, E., Bersényi, A., & Szabó, J. (2018). Effect of fulvic and humic acids on copper and zinc homeostasis in rats. *Acta Veterinaria Hungarica*, 66(1), 40–51.
- Iismaa, S. E., Kaidonis, X., Nicks, A. M., Bogush, N., Kikuchi, K., Naqvi, N., & Graham, R. M. (2018). Comparative regenerative mechanisms across different mammalian tissues. *Npj Regenerative Medicine*, 3(1), 1–6.
- Jainu, M., & Devi, C. S. S. (2004). Antioxidant effect of methanolic extract of *Solanum nigrum* berries on aspirin induced gastric mucosal injury. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 19(1), 57–61.
- Ji, Y., Zhang, A., Chen, X., Che, X., Zhou, K., & Wang, Z. (2016). Sodium humate accelerates cutaneous wound healing by activating TGF-β/Smads signaling pathway in rats. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(2), 132–140.
- Jooné, G. K., & van Rensburg, C. E. J. (2004). An in vitro investigation of the anti-inflammatory properties of potassium humate. *Inflammation*, 28(3), 169–174.
- Kim, Y.-S., Park, H. J., Kim, H., Song, J., & Lee, D. (2019). Gastroprotective effects of *Paeonia* extract mixture HT074 against experimental gastric ulcers in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–13.
- Kim, J. H., Kim, B. W., Kwon, H. J., & Nam, S. W. (2011). Curative effect of selenium against indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(4), 400–404.
- Klavins, M., & Purmalis, O. (2009). Humic substances as surfactants. *Environmental Chemistry Letters*, 8(4), 349–354.
- Klein, O. I., Kulikova, N. A., Konstantinov, A. I., Zykova, M. V., & Perminova, I. V. (2021). A Systematic Study of the Antioxidant Capacity of Humic Substances against Peroxyl Radicals: Relation to Structure. *Polymers*, 13(19), 3262.
- Klöcking, R., & Helbig, B. (2001). Humic substances, medical aspects and applications of humic substances. *Biopolymers Online*, 3–16.
- Kopp, J. L., Grompe, M., & Sander, M. (2016). Stem cells versus plasticity in liver and pancreas regeneration. *Nature Cell Biology*, 18(3), 238–245.
- Lamarque, D. (2004). Pathogenesis of gastroduodenal lesions induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 28, 18–26.

- Lim, J.-M., Song, C.-H., Park, S.-J., Park, D.-C., Jung, G.-W., Cho, H.-R., & Choi, J.-S. (2019). Protective effects of triple fermented barley extract (FBe) on indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(49), 1–11.
- MacAllister, C. G., Andrews, F. M., Deegan, E., Ruoff, W., & Olovson, S. G. (1997). A scoring system for gastric ulcers in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 29, 430–433.
- Mescher, A. L. (2017). Macrophages and fibroblasts during inflammation and tissue repair in models of organ regeneration. *Regeneration*, 4(2), 39–53.
- Monteiro-Stegall, B. P., Stegall, P. V. M., & Lascelles, B. D. X. (2013). Systematic review of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced adverse effects in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(5), 1011–1019.
- Muhammad, N., Saeed, M., Khan, A., Adhikari, A., Wadood, A., Khan, K., & De Feo, V. (2014). A new urease inhibitor from *Viola betonicifolia*. *Molecules*, 19(10), 16770–16778.
- Oosterhuis, W. P., Niessen, R. W. L. M., Bossuyt, P. M. M., Sanders, G. T. B., & Sturk, A. (2000). Diagnostic value of the mean corpuscular volume in the detection of vitamin B12 deficiency. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 60(1), 9–18.
- Rainsford, K. D. (1987). The effects of 5-lipoxygenase inhibitors and leukotriene antagonists on the development of gastric lesions induced by nonsteroidal antiinflammatory drugs in mice. *Agents and Actions*, 21(3-4), 316–319.
- Rao, C. V., Sairam, K., & Goel, R. K. (2000). Experimental evaluation of *Bocopa monniera* on rat gastric ulceration and secretion. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 44(4), 435–441.
- Salim, A. S. (1992). Use of scavenging oxygen-derived free radicals to protect the rat against aspirin- and ethanol-induced erosive gastritis. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(9), 943–946.
- Saxena, A., Balamnavar, V. M., Hohlfeld, T., & Saxena, A. K. (2013). Drug/drug interaction of common NSAIDs with antiplatelet effect of aspirin in human platelets. *European Journal of Pharmacology*, 721, 215–224.
- Schafer, M., & Werner, S. (2008). Oxidative stress in normal and impaired wound repair. *Pharmacological Research*, 58(2), 165–171.
- Schewe, C., Klöcking, R., Helbig, B., & Schewe, T. (1991). Lipoxygenase-inhibitory action of antiviral polymeric oxidation products of polyphenols. *Biomedica Biochimica Acta*, 50, 299–305.
- Simões, S., Lopes, R., Campos, M. C. D., Marruz, M. J., da Cruz, M. E. M., & Corvo, L. (2019). Animal models of acute gastric mucosal injury: Macroscopic and microscopic evaluation. *Animal Models and Experimental Medicine*, 2(2), 121–126.
- Stepchenko, L. M., & Skorik, M. V. (2006). Condition of erythrocyte antioxidant laying hens for the actions of humic substances. Technical bulletin Scientific Institute of Animal Biology and State Research Control Institute of Veterinary Preparations and Feed Additives, 7(3–4), 137–143 (in Ukrainian).
- Stepchenko, L. M., Kryvaya, O. A., & Chumak, V. O. (2019). Determination of the level of safety of Humilid during biotesting at ciliates. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 7(4), 210–214.
- Stepchenko, L. M. (2005). Mehanyzmy formyrovanyja byoprodukcyy u bystrorastushhej ptycy pod vlyjanyem preparatov gumynovoj pryrody. *Visnyk Dnipropetrovs'kogo Derzhavnogo Agrarnogo Universytetu*, 2, 237–241 (in Ukrainian).
- Suleyman, H., Albayrak, A., Bilici, M., Cadirci, E., & Halici, Z. (2010). Different mechanisms in formation and prevention of indomethacin-induced gastric ulcers. *Inflammation*, 33(4), 224–234.
- Szabó, J., Vucsikits, A. V., Berta, E., Andrásófszky, E., Bersényi, A., & Hullár, I. (2017). Effect of fulvic and humic acids on iron and manganese homeostasis in rats. *Acta Veterinaria Hungarica*, 65(1), 66–80.
- Szpirer, C. (2020). Rat models of human diseases and related phenotypes: a systematic inventory of the causative genes. *Journal of Biomedical Science*, 27(1), 84.
- Tikhonov, V. V., Yakushev, A. V., Zavgorodnyaya, Y. A., Byzov, B. A., & Demin, V. V. (2010). Effects of humic acids on the growth of bacteria. *Eurasian Soil Science*, 43(3), 305–313.
- Trckova, M., Matlova, L., Hudcova, H., Faldyna, M., Zraly, Z., Dvorska, L., & Pavlik, I. (2012). Peat as a feed supplement for animals: a literature review. *Veterinární Medicina*, 50(8), 361–377.
- Upadhyay, R., Torley, H. I., McKinlay, A. W., Sturrock, R. D., & Russell, R. I. (1990). Iron deficiency anaemia in patients with rheumatic disease receiving non-steroidal anti-inflammatory drugs: the role of upper gastrointestinal lesions. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 49(6), 359–362.
- Van Rensburg, C. E. J. (2000). An in vitro investigation of the antimicrobial activity of oxifulvic acid. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46(5), 853–854.
- Van Rensburg, C. E. J. (2015). The antiinflammatory properties of humic substances: A mini review. *Phytotherapy Research*, 29(6), 791–795.
- Vannella, K. M., & Wynn, T. A. (2017). Mechanisms of organ injury and repair by macrophages. *Annual Review of Physiology*, 79(1), 593–617.
- Vucsikits, A. V., Hullár, I., Bersényi, A., Andrásófszky, E., Kulcsár, M., & Szabó, J. (2010). Effect of fulvic and humic acids on performance, immune response and thyroid function in rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(6), 721–728.
- Wallace, J. L., McKnight, W., Reuter, B. K., & Vergnolle, N. (2000). NSAID-induced gastric damage in rats: Requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology*, 119(3), 706–714.
- Wallace, J. L. (2008). Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself? *Physiological Reviews*, 88(4), 1547–1565.
- Werawatganon, D., Lakananurak, N., Sallapant, S., Prueksapanich, P., Somanawat, K., Wisedopas, N., & Reknimitr, R. (2014). Su1959 Aloe Vera attenuated gastric injury on indomethacin-induced gastropathy in rats. *Gastroenterology*, 146(5), 18330–18337.
- Whittle, B. J. R. (2003). Gastrointestinal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 17(3), 301–313.
- Wolfe, M. M., Lichtenstein, D. R., & Singh, G. (1999). Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *New England Journal of Medicine*, 340(24), 1888–1899.
- Zaghlool, S. S., Abo-Seif, A. A., Rabeh, M. A., Abdelmohsen, U. R., & Messiha, B. A. S. (2019). Gastro-protective and anti-oxidant potential of *Althaea officinalis* and *Solanum nigrum* on Pyloric Ligation/indomethacin-induced ulceration in rats. *Antioxidants*, 8(11), 512.
- Zykova, M., Schepetkin, I., Belousov, M., Krivoshchekov, S., Logvinova, L., Bratishko, K., Yusubov, M. S., Romanenko, S. V., & Quinn, M. T. (2018). Physicochemical characterization and antioxidant activity of humic acids isolated from Peat of Various Origins. *Molecules*, 23(4), 753.