

## ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ СІРКОВОДНЮ У ЦИТОПРОТЕКЦІЇ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЕЗОФАГІТУ ТА КОРЕКЦІЇ L-ТРИПТОФАНОМ

**Н.Р. Грицевич<sup>1</sup>, О.С. Заячківська<sup>1</sup>, А.М. Яценко<sup>2</sup>**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

<sup>1</sup> Кафедра фізіології (зав. - член кор. НАМН, проф. М.Р. Гжегоцький)

<sup>2</sup> Кафедра гістології, цитології та ембріології (зав. - проф. О.Д. Луцик)

### Реферат

**Мета.** Дослідити в експериментах *in vivo* роль сірководню  $H_2S$  за умов моделювання його біосинтезу, а саме використовуючи інгібітор цистатіонін- $\gamma$ -ліази (CSE), цистатіонін- $\beta$ -синтази (CBS) та донор синтезу сірководню гідрогенсульфід натрію (NaHS) у цитопротекції та резистентності слизової оболонки стравоходу (СОС) під час індукції стрес-асоційованих пошкоджень стравоходу та медикаментної корекції L-триптофаном.

**Матеріал і методи.** Неерозійний езофагіт моделювали шляхом 3,5 годинного водно-імобілізаційного стресу за Takagi, 1964 у щурів, що отримували L-триптофан 400 мг/кг та плацебо 1,0 мл (0,9% розчин NaCl), інгібітори CSE, пропаргілгліцин, PAG (25 мг/кг), CBS, карбоксиметил-гідроксиламін геміхлорид (СНН, 3 ммоль/л), або донор біосинтезу  $H_2S$ , NaHS (100 ммоль/кг структур, зростання набряку, лейкоцитарної інфільтрації, змінюється товщини), за 0,5 год до індукції стресу, тварин виводили з експерименту під анестезією кетаміном (60 мг/кг-1). Для визначення важкості езофагіту гістоморфометричним аналізом досліджували індекси епітеліальної пластинки та змін підепітеліальних структур нижньої третини стравоходу за візуально-аналоговою шкалою (ВАШ).

**Результати й обговорення.** Неерозійні стрес індуквані пошкодження характеризувалися підепітеліальними та епітеліальними змінами шляхом збільшення їх індексів за ВАШ порівняно до контролю. Встановлено, що за блокади синтезу  $H_2S$  збільшується пошкодження СОС шляхом вираженого ураження підепітеліальних а СОС шляхом перерозподілу товщини епітеліальної пластинки та підепітеліальних структур, фокальних змін у м'язовій оболонці порівняно до групи контролю. Показано, що ведення L-триптофану реалізувалось шляхом цитопротекторних та вазотропних ефектів. Донор сірководню спричинив зменшення субепітеліальних пошкоджень, лейкоцитарну інфільтрацію, вказуючи на зменшення проникливості судин та запалення.

**Висновки.** Показано причетність ендогенного  $H_2S$  до захисних реакцій у езофагопротекції шляхом зменшення підепітеліальних пошкоджень та проникливості судин. L-Триптофан запобігав розвитку стрес-асоційованого езофагіту. Таким чином, результати дослідження є важливим свідченням про новий механізм у езофагопротекції та функціонуванні нижнього стравохідного сфінктера.

**Ключові слова:** цитопротекція, сірководень ( $H_2S$ ), експериментальна модель езофагіту, стравохід, запалення, проникливість судин, L-триптофан

### Abstract

## THE ROLE OF HYDROGEN SULFIDE IN CYTOPROTECTION IN EXPERIMENTAL ESOPHAGITIS AND L-TRYPTOPHAN TREATMENT

N.R. HRYCEVYCH, O.S. ZAYACHKIVSKA, A.M. YASHCHENKO

The Danylo Halytsky National Medical University in Lviv

**Aim.** To determine the protective role of endogenous hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) *in vivo* in rat esophageal mucosal (EM) lesions related to stress-associated injury.

**Methods.** Rats pre-treated for 7 days with L-tryptophan (400 mg/kg) with and without 3.5-h water immersion and restraint stress received *i.p.* injections of vehicle (1.0 mL 0.9% saline), cystathionine  $\gamma$ -lyase inhibitor, DL-propargylglycine, PAG (25 mg/kg), cystathionine  $\beta$ -synthetase inhibitor, O-carboxymethyl-hydroxylamine hemihydrochloride CHH (3 mmol/L), or  $H_2S$  donor NaHS (100 mmol/kg) at 0.5 h prior to stress, after animals were anaesthetized with ketamine (60 mg/kg). The epithelial lesion index and the subepithelial structural index were assayed by histomorphometric analysis in the lower third of the esophagus, and the severity of esophagitis was calculated using a visual analogue scale (VAS).

**Results.** Stress induced non-erosive injury characterized by esophageal subepithelial and epithelial lesions evaluated by elevated lesions and vascular indices using the VAS showed mild leukocyte infiltration compared to controls. Pretreatment with blocking synthesis of  $H_2S$  enhanced esophageal lesions, increasing subepithelial injury with extensive edema of the mucosal layer and infiltration by inflammatory cells, with changes in width of the epithelial layer and the subepithelial component of EM and focal destruction of the muscular layer in rats compared to controls. Administration of L-tryptophan had a significant cytoprotective and vasotropic effect on EM in rats with induced esophagitis than in animals not given L-tryptophan. NaHS pretreatment attenuated lesions of the subepithelial component of EM and decreased leukocyte infiltration, indicating decreased vascular permeability and inflammation.

**Conclusions.** These results indicate that endogenous  $H_2S$  plays a role in esophagoprotection, markedly improving subepithelial injury and reducing vascular permeability in EM. Inhibition of increased vascular permeability by L-

*tryptophan prevented the development of stress-associated esophagitis. These findings have important implications for a new mechanism in esophagoprotection and lower oesophageal sphincter functioning.*

**Keywords:** cytoprotection, hydrogen sulfide ( $H_2S$ ), animal model of esophagitis, esophagus, inflammation, vascular permeability, L-tryptophan

## Вступ

Гастроезофагальна рефлюксна хвороба - хронічне гастроентерологічне захворювання, що за поширеністю перевищує пептичну виразку та часто із невідомих причин призводить до розвитку карцином [2, 10]. Нашими попередніми даними встановлено, що в улцерогенезі слизової оболонки стравоходу (СОС) важливу роль відіграють численні прозапальні чинники [3, 10, 15], а процес гоєння пошкоджень у СОС зумовлений клітинними та молекулярними механізмами, пов'язаними із підепітеліальним компонентом бар'єрної функції стравоходу. Зміна проникливості судин СОС спричиняє дисфункцію епітеліального бар'єру за умов моделювання як топічних уражень кислотно-пепсинового та алкалічно-біліарного, так і стрес-індукованого генезу [5, 14]. Незважаючи на значний прогрес у трактуванні вазоактивних чинників цитопротекції, особлива роль належить ендогенним газотрансмітерам: оксиду азоту, монооксиду вуглецю, сірководню (гідроген сульфід,  $H_2S$ ), які легко дифундують через мембрани у клітини та змінюють їхні функції. Особливу увагу привертає  $H_2S$ , біосинтез якого залежить від активності цистатіонін- $\gamma$ -ліази (від англ.: cystathionine  $\gamma$ -lyase, CSE), цистатіонін- $\beta$ -синтази (від англ.: cystathionine  $\beta$ -synthetase, CBS), і бере участь у регулюванні судинного тону, передачі нервових імпульсів та секреції інсуліну [6, 8]. Відомо, що  $H_2S$  є ключовою сигнальною молекулою плейотропних механізмів, що контролюють лейкоцитно-ендотеліальну адгезію, запальні реакції, апоптоз, а також репарацію за рахунок зміни експресії циклооксигенази II [9]. Виявлено його фізіологічну роль у ноціцепції, секреторній та моторно-евакуаторній функціях травної системи [1, 7]. Проте роль  $H_2S$  у езофагоцитопротекції не з'ясована. В останні роки було доведено причетність порушень функціонування L-триптофан-серотонін-мелатонінової системи у регулюванні фізіологічних функцій в організмі. Нами було встановлено роль мелатоніну у забез-

печенні бар'єрної функції стравоходу та обґрунтовано раціональність її терапевтичного потенціалу для езофагопротекції [5]. Серед мішеней дії цієї системи особливе місце займає модуляторний контроль редокс статусу, протизапальна дія та вазотропна дія, проте ефект її донора L-триптофану на СОС на тлі змін транссульфування залишається невідомим. Інструментом досліджень ролі газотрансмітерів згідно сучасної методології є блокада ензимів (для  $H_2S$  - CSE і CBS), від яких залежить їх синтез, або додаткове введення відповідного донора (для  $H_2S$  - NaHS), що збільшує продукцію газотрансмітера [6, 8]. Тому нашою метою було вивчити роль  $H_2S$  у езофагоцитопротекції за рахунок моделювання його біосинтезу, а саме за умов використання інгібітора CSE, DL-пропаргілгліцин (від англ.: propargylglycine, PAG), інгібітора CBS, O-карбоксиметил-гідроксиламін геміхлорид, (від англ., O-carboxymethyl-hydroxylamine hemihydrochloride, CHH); та донора синтезу сірководню - екзогенного гідросульфід натрію (NaHS) та медикаментній корекції L-триптофаном.

## Матеріал і методи

Подвійні, рандомізовані морфо-функціональні дослідження слизової оболонки нижньої третини стравоходу проводили на нелінійних щурах-самцях (n=70) масою 170-200 г, згідно з прийнятими міжнародними етичними принципами роботи до "Правил проведення робіт з використанням лабораторних тварин" (2007) та відповідно до положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985) та плану комплексної науково-дослідної роботи кафедри нормальної фізіології ЛНМУ за темою: "Дослідження функціонально-метаболических резервів стрес-лімітуючих систем організму за екстремальних умов з метою виявлення ефективних засобів корекції" (2011-2015 рр., № державної реєстрації 0111U000121 ІН 25.01.0001.11). Тварин розділили на групу контролю (інтактні) та ті, які не отримували або отримували з їжею L-триптофан (L-Try) у дозі 400 мг/кг маси (в-во "Sigma", USA) впродовж 7 днів. Для індукції уражень СОС щурам індукували водно-іммобілізаційний стрес (BIC, модель Takagi, 1964), з попередньою 12 год депривацією від їжі та вільним дос-

тупом до води. Для моделювання зміни цитопротекції шляхом модифікації активності транссульфування застосовували введення фізрозчину (1,0 мл 0,9 % розчину NaCl) внутрішньоочеревинно (в.о.); PAG у дозі 3 ммоль/л, в.о.; СНН, 3 ммоль/л, в.о.; та донор синтезу H<sub>2</sub>S (NaHS) у дозі 100 мкмоль/кг, (усі препарати в-во "Antibe Therapeutics", Canada). Для виведення тварин з експерименту застосовували кетамін у дозі 25 мг/кг, в.о. Для морфо-функціонального аналізу гістологічний матеріал нижньої третини стравоходу та місця переходу стравоходу в шлунок фіксували у 4% нейтральному формаліні, серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм фарбували гематоксиліном і еозином (ГЕ) та здійснювали візуалізацію з використанням мікроскопа Swift Instruments International, Japan, і цифрової відеокамери Echo-Imager 5020200 Microscope Digital Eyepiece, China. Стан бар'єрної функції стравоходу оцінювали за морфо-функціональним аналізом відповідно до візуально-аналогової шкали (ВАШ) з урахуванням наступних кількісно-якісних критеріїв: 1) стан епітеліальної пластинки за індексом альтерації (ІЕВ): 0 - зміни відсутні, 1 - розшарування рогового шару, 2 - вогнищева базофілія мас кератину, 3 - десквамація рогових мас, вакуолізація клітин базального шару, везикулярні ядра; 2) стан підепітеліальних структур за індексом їхніх змін (ІПС): 0 - відсутні зміни, 1 - дифузний набряк підслизової, 2 - виражений нерівномірний набряк підслизової основи та незначна інфільтрація, 3 - виражений набряк та дезорганізація підслизової, периваскулярні або субепітеліальні інфільтрати, периваскулярні крововиливи; 3) стан м'язової оболонки за проявами некрозу: 0 - відсутній, 1 - каріорексис, каріопікноз, 2 - фокальний некроз; 3 - генералізований некроз. Ступінь змін епітеліальної пластинки та підепітеліальних структур СОС у препаратах оцінювали морфометричним аналізом у відносних одиницях (ВО) згідно стандартної шкали за допомогою програмного забезпечення UTHSCSA "Image Tool for Windows. Version 2.00" (США). Ступінь ураження СОС обраховували наступним чином: товщина ділянки ушкоджень епітеліального компонента та підепітеліальних структур (у відносних одиницях)/товщини епітеліального бар'єру x 100%.

Статистичний аналіз отриманих результатів проведено за допомогою програми

"Statistica 5,5" (США) з обчисленням середньоарифметичного і стандартного відхилення та похибки середнього, порівняння середніх значень двох вибірок за допомогою t-критерію,  $p < 0,05$  вважали статистично вірогідними.

### Результати й обговорення

Ознаки пошкодження СОС у тварин контрольної групи були відсутні (рис. 1), товщина епітеліальної пластинки склала  $68,82 \pm 1,09$  ВО, підепітеліальних структур -  $57,95 \pm 1,55$  ВО, індукція стресу у тварин із застосування СНН призвела до зникнення папілярного рисунка СОС, ІЕВ мав двобальні пошкодження, судини мікроциркуляторного русла у підслизовій основі заповнені агрегатами еритроцитів, м'язова оболонка мала одnobальні ознаки деструктивного характеру за ВАШ (рис. 2), тоді як дія PAG ініціювала виразний набряк підслизової основи, периваскулярні або субепітеліальні інфільтрати, периваскулярні крововиливи (товщина склала  $86,55 \pm 2,99$  ВО), що реалізувалось у збільшенні ІПС до 3-х бальних пошкоджень і свідчить про суттєві зміни проникливості судин, інфільтрацію лейкоцитами (рис. 3). Простежено звуження просвіту стравоходу за

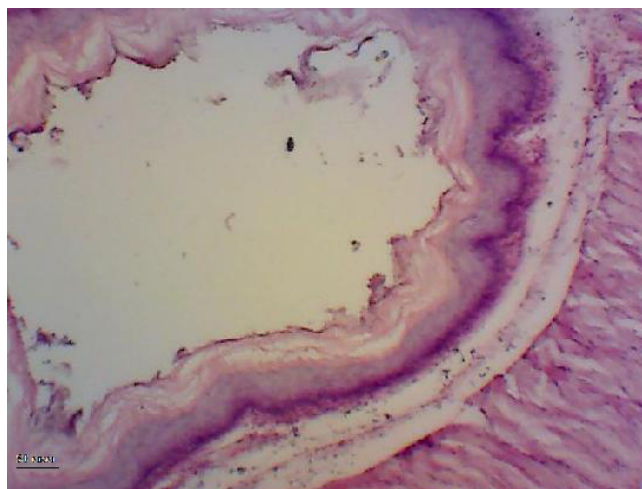


Рис. 1

Слизова оболонка стравоходу у нормі (контрольна група), із виразним структуруванням на епітеліальну, власну пластинку та м'язову пластинку, підслизову основу. До підепітеліальних структур стравоходу відносили власну пластинку, сформовану пухкою сполучною тканиною із великою кількістю клітинних елементів, серед яких переважають клітини фібробластичного ряду, м'язову пластинку, утворену гладкими м'язовими клітинами та підслизову основу утворену пухкою сполучною тканиною із судинами мікроциркуляторного русла. Забарвлення гематоксиліном еозином, об'єктив x20



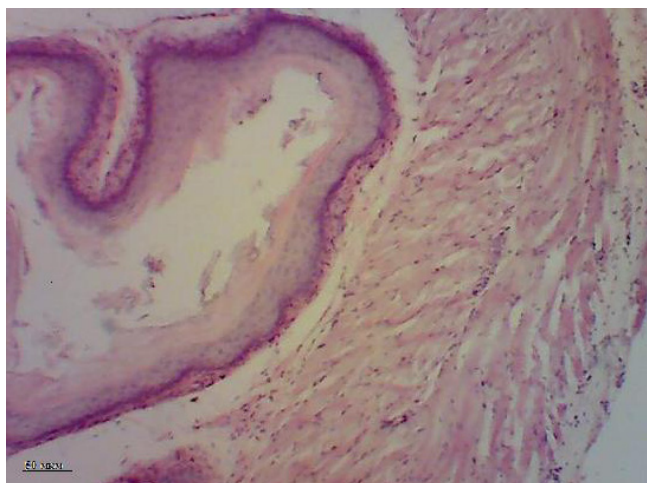


Рис. 2

Ознаки неерозійного стрес-асоційованого езофагіту за умов дії інгібітора цистатіонін- $\beta$ -синтази. Забарвлення гематоксиліном еозином, об'єктив x8

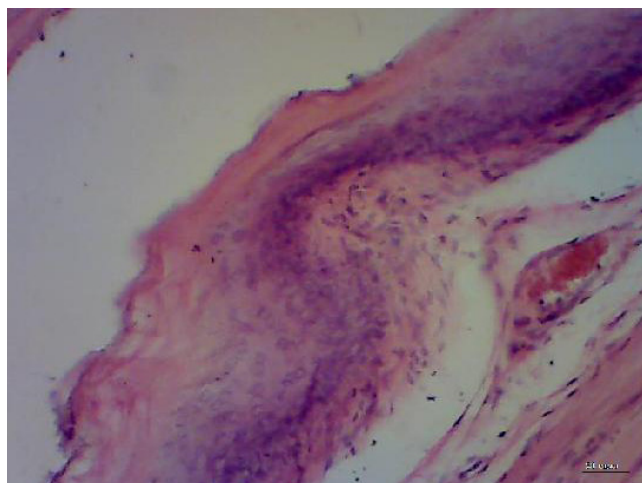


Рис. 3

Ознаки неерозійного стрес-асоційованого езофагіту за умов дії інгібітора цистатіонін- $\gamma$ -ліази. Забарвлення гематоксиліном еозином, об'єктив x20

рахунок набряку підслизової основи та заповнення його десквамованими елементами поверхневого шару, що в літературі описується як виразні преерозійні зміни СОС і трактуються як ознаки езофагіту [2]. На тлі блокади синтезу  $H_2S$  також було виявлено деструктивні двобальні зміни м'язової оболонки за ВАШ, особливо, зовнішнього шару (рис. 4) порівняно до контролю, які ініціюють зміни моторики нижнього стравохідного сфінктера та збільшення експозиції СОС до шлункового вмісту. Введення NaHS характеризувалось помірним папілярним рисунком, відсутністю десквамацій у просвіті, поверхневий шар епітелію посилено кератинізований, товщина епітеліальної пластинки складала  $92,53 \pm 5,36$  ВО,

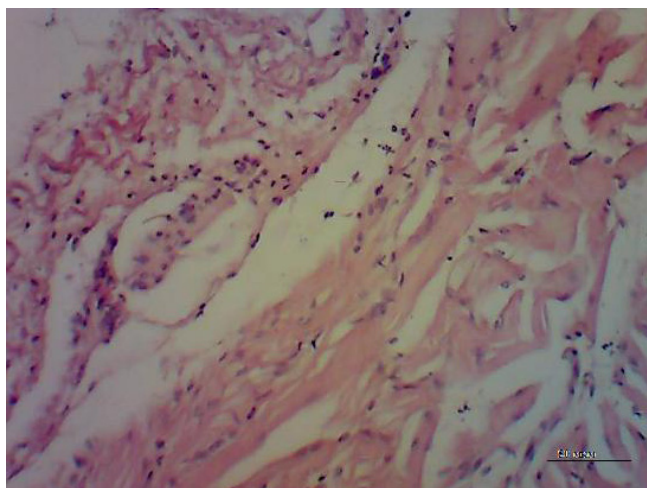


Рис. 4

Дія пропаргілліцину на м'язову оболонку нижньої частини стравоходу за умов стрес-індукованого езофагіту. Забарвлення гематоксиліном еозином, об'єктив x20

у підслизовій основі ознак набряку помірні, ППС був однобальним за ВАШ, відсутні ознаки ураження м'язової пластинки порівняно до дослідних груп з блокадою активності  $H_2S$ , що свідчить про езофагопротекторну дію та адаптивно-компенсаторні ознаки посилення бар'єрної функції стравоходу (рис. 5).

Використання L-Тру задокументувало загальну тенденцію до зменшення геморагічних ознак, дезорганізації пухкої сполучної тканини, для ППС та ІЕВ були характерні однобальні пошкодження (рис. 6), деструктивних змін поверхневого епітеліального шару та десквамації рогового шару не простежено (рис. 7). Виявлено, що L-Тру індукує збільшення товщини підепітеліального компонента СОС, причому такі товщини були у двічі меншими у групі тварин, яким вводили PAG, ніж СНН:  $87,18 \pm 3,42$  versus  $196,28 \pm 6,82$  ( $p < 0,05$ ). Динаміка змін товщини компонентів епітеліального бар'єру СОС представлена на рис.8.

Поєднання дії NaHS і L-Тру призвело, що зміни товщини епітеліальної пластинки  $50,54 \pm 2,44$  ВО ( $p < 0,05$ ), підслизових структур -  $56,04 \pm 0,98$  ВО, також у підслизовій основі СОС виявлено багато судин мікроциркуляторного русла, що ми розцінюємо як вазотропний ефект даних засобів (рис. 9). У м'язовій оболонці на тлі відсутності ознак її деструкції також задокументовано збільшення кількості судин, що підтверджується даними літератури про участь  $H_2S$  в ішемічному прекодиціонуванні та залучення інших вазодиліаторних газотрансмітерів [7-9].

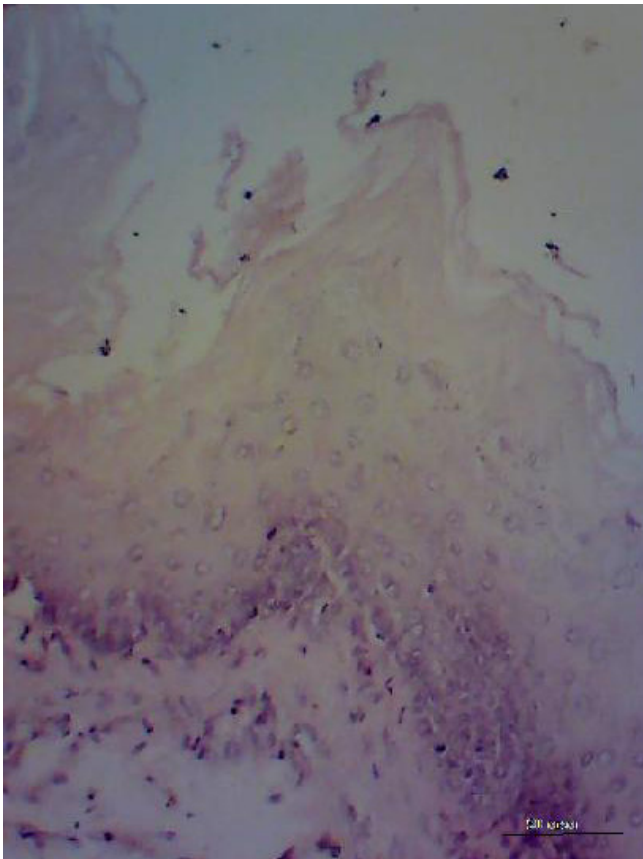


Рис. 5

Дія донора сірководню на слизову оболонку стравоходу за умов не ерозійного стрес-асоційованого езофагіту. Забарвлення гематоксиліном еозином, об'єктив x20

Отримані дані вказують на важливість функціонування газотрансміттера  $H_2S$  у забезпеченні функціонування ендотелію та проникливості судин СОС, оскільки зміна каталітичної активності головних ензимів його біосинтезу призводить до

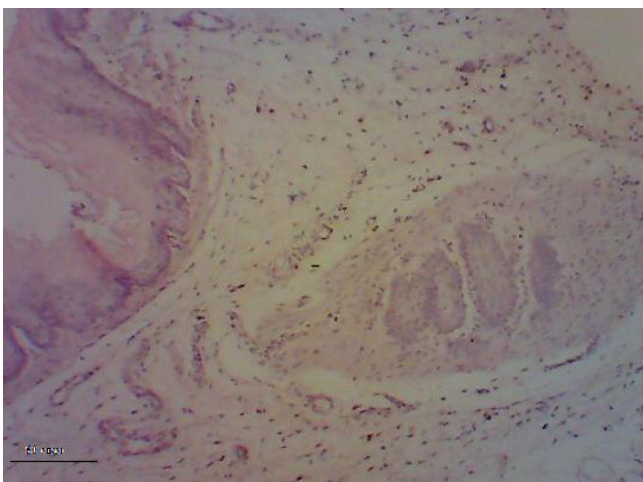


Рис. 7

Дія триптофану на слизову оболонку стравоходу за умов неерозійного стрес-асоційованого езофагіту на тлі введення карбоксиметил-гідроксиламін геміхлориду. Забарвлення гематоксиліном еозином, об'єктив x20

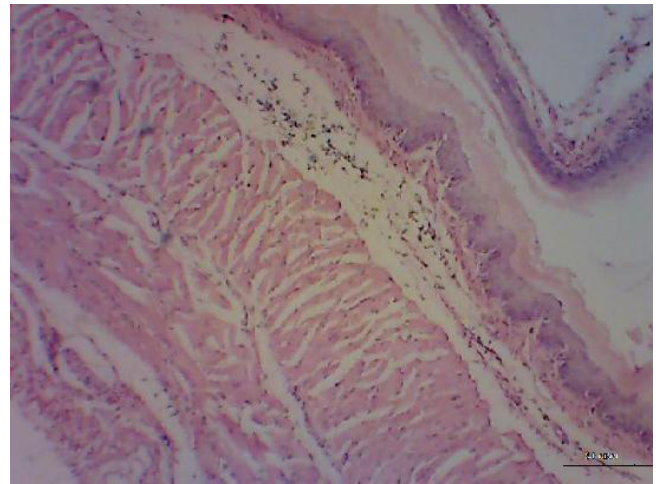


Рис. 6

Дія триптофану на слизову оболонку стравоходу за умов неерозійного стрес-асоційованого езофагіту на тлі введення пропаргілліцину. Забарвлення гематоксиліном еозином, об'єктив x8

структурно-функціональної дезорганізації підепітеліальних структур, що спричиняє ознаки ураження м'язової оболонки, запалення та геморагічні зміни у епітеліальному бар'єрі стравоходу. Натомість вплив донора синтезу  $H_2S$  призводить до оптимального кровопостачання СОС та збереження цілісності бар'єрної функції стравоходу, а дія L-триптофану та  $H_2S$  нівелює стрес-асоційований цитодеструктивний вплив на СОС, вказуючи на їхні потенційні захисні властивості.

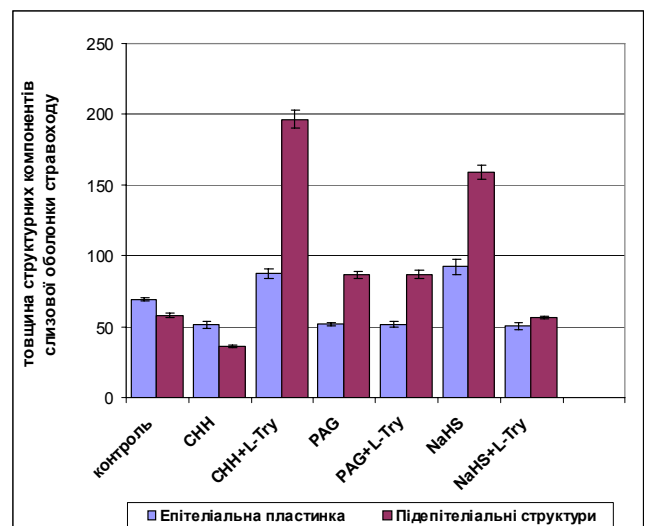


Рис. 8

Порівняння дії донора біосинтезу сірководню NaHS та інгібіторів цистатіонін- $\beta$ -синтази (карбоксиметил-гідроксиламін геміхлориду, СНН) та цистатіонін- $\gamma$ -лази (дія пропаргілліцину, PAG) на зміни товщини структурних компонентів слизової оболонки стравоходу за умов неерозійного стрес-асоційованого езофагіту та впливу L-триптофану. \* $P < 0,05$  порівняно до групи контролю



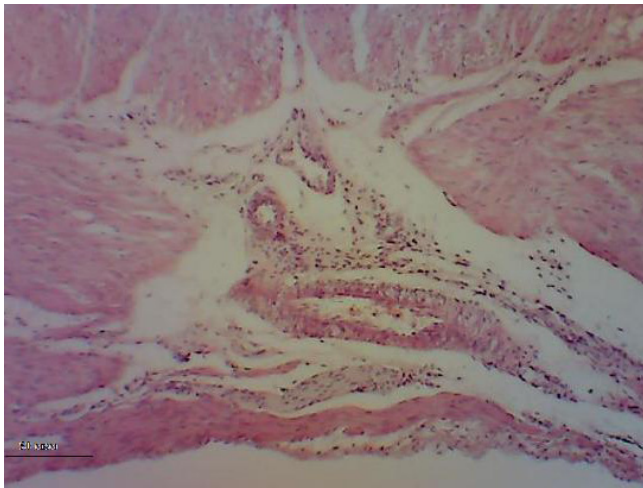


Рис. 9

Поєднаний вплив сірководню  $\text{NaHS}$  і  $L$ -триптофану на слизову оболонку стравоходу за умов неерозійного стрес-асоційованого езофагіту. Забарвлення гематоксилином еозином, об'єktiv  $\times 20$

### Висновки

1. Ендогенно утворений сірководень виконує важливу фізіологічну роль у забезпеченні цитопротекції слизової оболонки стравоходу і є компонентом її локальної стрес-лімітуючої системи.
2. Результатами морфологічних та морфометричних досліджень слизової оболонки нижнього відділу стравоходу доведено, що механізм дії газотрансмітера  $\text{H}_2\text{S}$  полягає у зменшенні проникливості судин та запалення, викликаючи зменшення ознак стрес-асоційованого езофагіту та дисмоторики нижнього сфінктера стравоходу.
3. Езофагопротекторний ефект  $L$ -триптофану та сірководню може бути прототипом для створення нових вискоєфективних езофагопротекторних лікарських засобів.

Автори висловлюють подяку проф. Джо-ну Валлесу з McMaster University, Antibe Therapeutics Inc (Канада) та проф. Станіславу Контуреку з Jagiellonian University Collegium Medicum (Польща) за люб'язно надані препарати, а також асистенту кафедри гістології, цитології та ембріології Х. Струс за технічну допомогу при виконанні морфометричних досліджень.

### Література

1. Caliendo G, Cirino G, Santagada V, Wallace JL. Synthesis and biological effects of hydrogen sulfide ( $\text{H}_2\text{S}$ ): development of  $\text{H}_2\text{S}$ -releasing drugs as pharmaceuticals. *J Med Chem.* 2010 Sep 9;53(17):6275-6286.
2. Hiroyuki E., Katsunori I., Kiyotaka A. et al. Exogenous luminal nitric oxide exposure accelerates columnar transformation of rat esophagus. *Jap Exposure Int. J.*

*Cancer:* 2010 127, 2009-2019.

3. Hrytsevych N., Zayachkivska O., Gzregotsky M. Morphofunctional reorganization of epithelial barrier of esophagus under binary blockade of cyclooxygenase of 1/2 and 5-lipoxygenase in diabetic rats. *Bull Biol Medic Probl* 2011; 2(Suppl. 2): 65-66. Ukrainian: (Грицевич Н.Р., Заячківська О.С., Гжегоцький М.Р. Морфо-функціональна реорганізація епітеліального бар'єру стравоходу за умов бінарного блокування циклооксигеназ 1/2 і 5-ліпоксигенази у щурів з цукровим діабетом. *Бюл. біол і мед проблем.* - 2011; 2(Suppl. 2): 65-66).
4. Hrytsevych N., Zayachkivska O., Yaschenko A., et al. Search for new endothelial dysfunction markers in nonerosive esophagitis against the backdrop of postprandial glycaemia and the influence of L-tryptophan. *Pract Med* 2012; XXVIII: 29-38. Ukrainian: (Грицевич Н.Р., Заячківська О.С., Ященко А.М., та ін. Пошук нових маркерів ендотеліальної дисфункції за умов неерозійного езофагіту на тлі постпрандіальної гіперглікемії та впливу  $L$ -триптофану. *Практична медицина* 2012; XXVIII: 29-38).
5. Konturek S., Zayachkivska O., Havryluk X., et al. Protective influence of melatonin against acute esophageal lesions involves prostaglandins, nitric oxide and sensory nerves. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58(Suppl. 2): 361-387.
6. Predmore B.L., Lefter D.J., and Gojon G. Hydrogen sulfide in biochemistry and medicine. *Antioxid Redox Signal.* 2012 July 1; 17(1): 119-140.
7. Wallace J.L. Mechanisms, prevention and clinical implications of nonsteroidal anti-inflammatory drug-enteropathy. *World J Gastroenterol.* 2013 March 28; 19(12): 1861-1876.
8. Wallace J.L., Ferraz J.F., Muscara M.N. Hydrogen sulfide: an endogenous mediator of resolution of inflammation and injury. *Antioxid Redox Signal.* 2012 July 1; 17(1): 58-67.
9. Zanardo RC, Brancalone V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, Wallace JL. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *FASEB J.* 2006 Oct; 20(12): 2118-2120.
10. Zayachkivska O. Physiopathology of esophageal inflammation, ulcerogenesis and repair by studying the profile of glycoconjugate // *Cell/Tissue Injury and Cytoprotection/Organoprotection in the Gastrointestinal Tract: Mechanisms, Prevention and Treatment/ Front Gastrointest Res.* - Basel, Karger 2012; 30: 148-160.
11. Zayachkivska O. Role of endogenous salivary bioregulators in forming esophagus protection in experimental injury of esophagus. *Contemporary Gastroenterol,* 2006; 4: 65-71. Ukrainian: (Заячківська О. Значення ендогенних біорегуляторів слини у формуванні езофагопротекції за умов експериментального пошкодження стравоходу. 2006; 4: 65-71).
12. Zayachkivska O. Role of NO-mediated mechanism in resistance of mucosa of esophagus. *Ukr Med Almanac* 2006; 9 (Suppl. 6): 48-49. Ukrainian: (Заячківська О. Значення NO-опосередкованого механізму в резистентності слизової стравоходу. *Український медичний альманах.* 2006; 9(Suppl. 6): 48-49).
13. Zayachkivska O., Gzregotsky M., Ferenc M. et al. Effects of nitrosative stress and reactive oxygen-scavenging

- systems in esophageal physiopathy under streptozotocin-induced experimental hyperglycemia. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59 (Suppl. 2): 77-87.
14. Zayachkivska O., Gzregotsky M., Havryluk X., Sliwowski Z. et al. Functional state of microcirculation in esophagus in the genesis of gastroesophageal reflux disease. *Contemporary Gastroenterol* 2007; 1: 50-55. Ukrainian: (Заячківська О. Гжегоцький М.Р., Гаврилюк О.М., Слівовський З., та ін. Функціональний стан мікроциркуляції стравоходу в генезі гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби (експериментальні дослідження). *Сучасна гастроентерологія*. 2007; 1: 50-55).
15. Zayachkivska O., Hrycevych N., Zvir M. Effect of proinflammatory cytokine-mediated mechanism of quality of gastrointestinal restitutio ad integrum. *Annales UMCS* 2010; 28 (8): 211-214.