

*Животова Е. Ю., Курунова И. И., Болоняева Н. А.,
Флейшман М. Ю., Тимошин С. С.*

**МЕХАНИЗМЫ ПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ДАЛАРГИНА
ПРИ НПВП-ГАСТРОПАТИЯХ**

*Дальневосточный государственный медицинский университет
Минздрава России, г. Хабаровск*

Применение нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) может приводить к формированию НПВП-гастропатии, для предупреждения которой применяется целый ряд препаратов [5]. Ранее нами было показано, что протективное влияние даларгина на состояние слизистой оболочки желудка (СОЖ) при НПВП-гастропатии реализуется посредством активации пролиферативных процессов. Это подтверждалось увеличением индекса меченных ^3H -тимидином ядер у мышей и индекса экспрессии Ki67 ядер в (СОЖ) у пациентов [1, 2]. Выраженность процессов апоптоза, наряду с пролиферацией характеризующего состояние тканевого гомеостаза, оставалась неисследованной.

Цель исследования — изучение характера влияния корригирующей терапии даларгином при НПВП-гастропатиях на гистоморфологическую картину и процессы апоптоза в слизистой оболочке желудка.

Материалы и методы

Экспериментальная часть работы выполнялась на белых мышках-самцах (65 животных) массой 25–30 г. Модель индометацин-индуцированного повреждения СОЖ создавали путем зондового введения животным индометацина (250 мг/кг). Даларгин (лаборатория синтеза пептидов Российского кардиологического центра) вводили животным внутривентрально в дозе 100 мкг/кг 1 раз в сутки в течение 5 сут. На 5-е сутки исследования животные интрагастрально получали индометацин и через 48 час посредством быстрой декапитации их выводили из эксперимента. Контрольная группа животных получала эквивалентное количество 0,9 % раствора NaCl.

Площадь эрозивно-язвенного поражения СОЖ измеряли с помощью компьютерной морфометрии на комплексном анализаторе изображения «МЕКОС-Ц» после видеозахвата под бинокулярной лупой ($\times 6$).

Клиническую группу исследования составили больные остеоартрозом, проходившие комплексное обследование и лечение в ГУЗ «Консультативно-диагностический центр «Вивея». Пациенты были разделены на 2 группы, рандомизированы по полу, возрасту, характеру и длительности основного заболевания. Все они подписали бланки информированного согласия на участие в эксперименте. I группа — 23 пациента, получавшие диклофенак в дозе 0,05 г 2 раза в сутки в течение 28 дней. II группа (26 человек) — пациенты, получавшие на фоне лечения диклофенаком в течение 28 дней даларгин по 0,002 г в сутки.

Фиброгастроуденоскопия (ФГДС) проводилась по общепринятой методике аппаратом фирмы «Олимпус». Иммуногистохимическую (ИХГ) реакцию для детекции апоптоза на серийных парафиновых срезах СОЖ проводили с использованием реактива фирмы «Millipore». Результаты реакций по TUNEL выражались в баллах по 4-бальной системе: 1 балл — 5–10 % TUNEL-положительных клеток, 2 балла — 10–20 %, 3 балла — 20–40 %, 4 балла — более 40 % [6].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6,0 с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Интрагастральное введение индометацина индуцировало у мышей выраженное повреждение слизистой оболочки желудка. При световой микроскопии язвы

определялся клиновидный дефект СОЖ. В области подрытого края имели место выраженный отек и некробиотические изменения с нарушением гистоархитектоники структур слизистого слоя. В дне язвы выявлялись бесструктурные массы, слущенные эпителиоциты с примесью лимфоидоподобных клеток, под которыми располагались зоны фибриноидного некроза, а также сохраненные структуры слизистой оболочки. Средняя площадь поражения составила $10,92 \pm 2,05 \text{ мм}^2$ (при отсутствии подобных поражений в контроле). Предварительное (до воздействия индометацина) пятикратное введение даларгина животным ослабило повреждающее действие на СОЖ. Площадь повреждения уменьшилась в 3,9 раза (индометацин — $10,92 \pm 2,05 \text{ мм}^2$; даларгин + индометацин — $2,79 \pm 0,74 \text{ мм}^2$) ($p < 0,05$).

В гастробиоптатах антрального отдела желудка больных, получавших диклофенак, морфологические изменения (как в поверхностных, так и в глубоких слоях) носили очаговый или диффузный характер. Имели место дистрофические изменения и некроз поверхностных эпителиальных структур, а также отек и очаговые кровоизлияния в подслизистой оболочке. В собственном слое слизистой оболочки желудка присутствовали: гиперемия, стазы в микроциркуляторном русле, лимфоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофилов, очаги отека, признаки атрофии желез (рис. 1).

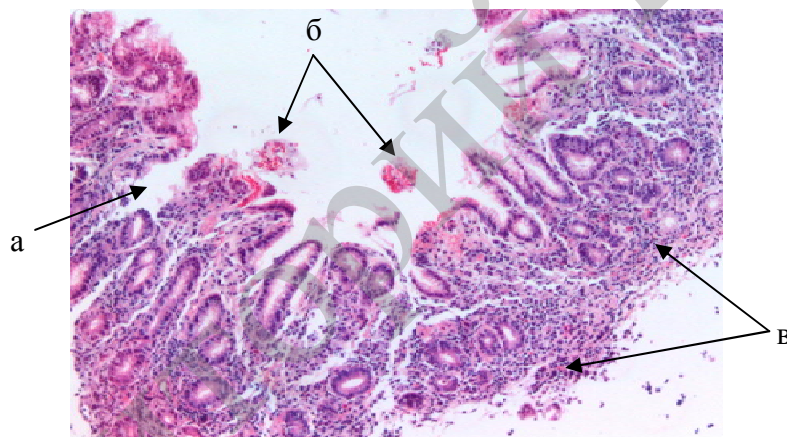


Рис. 1. Гастробиоптаты антрального отдела желудка больных, получавших диклофенак: а — очаговая десквамация покровно-ямочного эпителия; б — детрит: бесструктурные эозинофильные массы с эритроцитами с лизированием и примесью лейкоцитов; в — рассеянная воспалительноклеточная инфильтрация стромы собственно слизистой оболочки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 21×5

На фоне применения даларгина деструктивные изменения носили менее выраженный характер: более слабая инфильтрация мононуклеарами СОЖ при наличии слабой активности воспалительного процесса, очаговый фиброз стромы. Эрозии, лимфоидные фолликулы, очаги кишечной метаплазии не регистрировались (рис. 2).

Детекция апоптоза свидетельствовала, что применение даларгина снижает уровень процесса программированной клеточной гибели. В то время как у больных, получавших диклофенак 28 дней, выраженность апоптоза составила $2,82 \pm 0,51$ баллов (что соответствует данным литературы [3]), при коррекции даларгинном этот показатель уменьшился до $1,5 \pm 0,15$ баллов ($p < 0,05$).

Снижение индекса апоптоза в СОЖ при гастрите является одним из показателей эффективности лечения [3]. Причиной уменьшения уровня апоптозных тел при корригирующей терапии даларгиним, вероятно, является сочетание нескольких взаимодополняемых факторов. Прежде всего, это наблюдаемое в настоящих исследованиях ослабление выраженности воспалительной реакции. Воспаление оценивается как дополнительный путь активации апоптоза, помимо воздействий, напрямую стимулирующих запрограммированную клеточную гибель [4]. Другой возможной причиной уменьшения уровня апоптозных тел при коррекции гастропатического действия диклофенака даларгиним может быть антиоксидантная и антирадикальная активность даларгина [2].

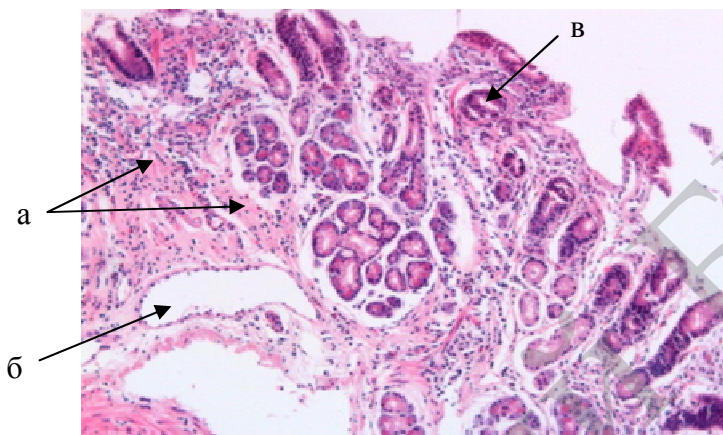


Рис. 2. Гастробиоптаты антрального отдела желудка больных, получавших диклофенак на фоне лечения даларгиним (репаративные изменения):
а — поля зрелой соединительной ткани, *б* — расширение просветов сосудов с их запустеванием, *в* — перигландулярный склероз. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 21×10

Выводы

Таким образом, гастропротективный эффект даларгина в условиях НПВП-гастропатии обусловлен несколькими взаимосвязанными механизмами. Наряду с повышением пролиферативного потенциала и снижением проявлений оксидативного стресса, это ослабление воспалительных реакций и процессов апоптоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Применение даларгина для профилактики и лечения НПВП-гастропатий / Н. А. Болоняева [и др.] // Дальневост. мед. журнал. 2005. № 2. С. 62–66.
2. Гастропротективный эффект даларгина при гастропатии, вызванной приемом нестероидных противовоспалительных средств / Е. Ю. Животова [и др.]. // Бюлл. экспер. биол. и медицины. 2009. Т. 147, № 4. С. 420–423.
3. Процессы апоптоза и пролиферации при патологии желудочно-кишечного тракта и печени / В. Т. Ивашкин [и др.] // Российск. журн. гастроэнтерол. гепатол. и колопроктол. 2002. № 6. С. 38–43.
4. Морфология поверхностного и атрофического хронического гастрита при эрадикации *Helicobacter pylori* / А. В. Кононов [и др.] // Арх. патологии. 2005. № 3. С. 17–21.
5. Христин, Т. Н. О возможностях H₂-блокаторов гистаминовых рецепторов третьего поколения — фамотидина — в лечении эрозивно-язвенных поражений при различных заболеваниях и состояниях внутренних органов / Т. Н. Христин // Ліки України. 2009. № 5 (131). С. 106–112

6. *MMP-1*, MMP-9, TIMP-1, VEGF, Ki-67 and apoptosis in endometrial hyperplasia in premenopausal women : what is new / T. Demura [et al.]. // *Folia hystochemica et cytobiologica*. 2008. № 46. S. 2. P. 40.