

3. Войцеховский В.В., Ландышев Ю.С., Григоренко А.А. и др. Анализ заболеваемости множественной миеломой в Амурской области // Дальневост. мед. журнал. - 2004. - №2. - С. 34-37.

4. Войцеховский В.В., Ландышев Ю.С., Есенин В.В. и др. Анализ результатов лечения больных множественной миеломой // Дальневост. мед. журнал. - 2007. - №1. - С. 47-50.

5. Воробьев А.И. Цитостатическая болезнь: руководство по гематологии. - 3-е изд., перераб. и доп. - М.: Нью-диамед, 2003. - Т.2. - С. 206-209.

6. Вотякова О.М., Демина Е.А. Множественная миелома // Клиническая онкогематология [под ред. М.А. Волковой]. - Изд. 2-е, перераб. и доп. - М., 2007. - С. 847-871.

7. Птушкин В.В. Инфекционные осложнения у больных с онкогематологическими заболеваниями // Клиническая онкогематология [под ред. М. А. Волковой]. - М., 2007. - С. 1001-1024.

8. Рукавицин О.А., Сидорович Г.И. Множественная миелома и родственные заболевания. - М.: БИНОМ, 2006. - 212 с.

9. Рукавицин О.А., Сидорович Г.И. Паранепротеинемические гемобластозы. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 304 с.

10. Янченко Д.Е., Шишкин А.Н., Максимов Г.А. Случай солитарной миеломы толстой кишки // Новые Санкт-

Петербургские врачебные ведомости. - 2007. - №4. - С. 100-102.

11. Durie B.G.M., Salmon S.E. A clinical staging system for multiple myeloma: Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. // Cancer. - 1975. - Vol. 36, №3. - P. 842-854.

12. Wendum D., Vissuzaine C., Bellanger J. et al. A case of polypoid solitary colonic plasmocytoma // Ann. Patol. - 1994. - Vol. 14. - P. 248-250.

Координаты для связи с авторами: Ландышев Юрий Сергеевич — доктор мед. наук, зав. кафедрой госпитальной терапии АГМА, засл. деятель науки РФ, академик РАЕН, профессор, тел.: 8(4162) 42-94-19; Груздова Анна Владимировна — аспирант кафедры госпитальной терапии АГМА, тел.: 8(4162) 42-54-97, e-mail: gruzdovablg@mail.ru; Войцеховский Валерий Владимирович — доктор мед. наук, доцент кафедры госпитальной терапии АГМА, тел.: 8(4162) 49-54-97, e-mail: voitsehovskij@yandex.ru; Григоренко Алексей Александрович — доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической анатомии АГМА, тел.: 8(4162) 44-52-21; Дердюк Елена Марковна — канд. мед. наук, врач отделения функциональной диагностики Амурской областной клинической больницы.



УДК 616.332 - 085 : 615.7^{даларгин}-092.4/.9 - 001.8

Е.Ю. Животова¹, Н.А. Болоняева³, М.Ю. Флейшман¹, А.Н. Евсеев¹, Л.П. Исаенко³,
О.А. Лебедько², Е.Н. Сазонова¹, С.А. Алексеев¹, С.С. Тимошин¹

ВЛИЯНИЕ ДАЛАРГИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ НПВП-ГАСТРОПАТИЙ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И ПРОЦЕССОВ АПОПТОЗА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Дальневосточный государственный медицинский университет¹,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел.: 8(4212) 32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;
Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания
СО РАМН - НИИ охраны материнства и детства², 680022, ул. Воронежская, 49, кор. 1, e-mail: iomid@yandex.ru;
ГУЗ «Консультативно-диагностический центр «Вивея»³,
тел.: 8(4212) 45-15-40, e-mail: glavvrach.viveya@inbjox.ru, г. Хабаровск

В ранее проведенных исследованиях нами была установлена способность даларгина снижать частоту возникновения НПВП-гастропатий и оказывать положительное воздействие на их течение [3]. При этом имела место активация пролиферативных процессов. Нарушение тканевого гомеостаза, проявляющееся при гастропатиях эрозиями и язвами, обусловлено не только нарушением пролиферации эпителия, но и активацией апоптоза и усилением оксидативного стресса.

Целью настоящего исследования было изучение характера влияния корригирующей терапии даларгином при НПВП-гастропатиях на гистоморфологическую картину слизистой оболочки желудка, выраженность оксидативного стресса и индуцируемые им процессы апоптоза.

Материалы и методы

Экспериментальная часть работы выполнялась на мыш- шах-самцах массой 25-30 г. Животные были разделены

на три группы: 1 группа — контрольная — животным пятикратно инъектировали изотонический раствор NaCl и однократно при помощи зонда вводили эквивалентное количество физиологического раствора; 2 группа — мыши, которым для создания модели НПВП-гастропатии с помощью зонда однократно вводили индометацин в дозе 250 мг/кг; 3 группа — животные, которым внутрибрюшинно вводили даларгин в дозе 100 мкг/кг 1 раз в сут в течение 5 сут. На 5 сут исследования животным интрагастрально вводили индометацин и через 48 ч выводили из эксперимента. Всего в эксперименте было использовано 30 животных.

Процессы свободнорадикального окисления (СРО) в гомогенатах желудка исследовали методом хемилюминесценции (ХМЛ). Регистрацию ХМЛ осуществляли на люминесцентном спектрометре LS 50B («Perkin Elmer») по ранее описанной методике [2, 4, 10].

Клиническую группу исследования составили больные, проходившие комплексное обследование и лечение в Консультативно-диагностическом центре «Вивея», страдавшие остеоартрозом. Пациенты были разделены на две группы, рандомизированы по полу, возрасту, характеру и длительности основного заболевания. Все пациенты подписали бланки информированного согласия на участие в эксперименте. Первую группу составили 23 пациента, получавшие диклофенак в дозе 0,05 г 2 раза в сут в течение 28 дн. Вторая группа (26 чел.) была сформирована из пациентов, которые на фоне лечения диклофенаком в течение 28 дн. получали даларгин по 0,002 г. Условия проведения общеклинического, эндоскопического обследования и оценку качества жизни проводили по описанной ранее методике [3]. Фиброгастродуоденоскопия (ФГДС) проводилась по общепринятой методике аппаратом фирмы «Олимпус». Для количественной оценки повреждений желудка использовали критерий А. Euler [8].

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-балльной системе: 1 балл — 5-10% окрашенных клеток, 2 балла — 10-20%, 3 балла — 20-40%, 4 балла — более 40% [6, 11].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Данные хемилюминесцентного анализа свидетельствуют о формировании выраженного оксидативного стресса в ткани желудка после воздействия индометацина. Все исследуемые ХМЛ-параметры достоверно превышали контрольные значения. Интенсивность свободнорадикального окисления ($S_{\text{сн}}$) была увеличена в 3,4 раза, концентрация гидроперекисей липидов (h) — в 2,8 раза, скорость образования перекисных радикалов ($S_{\text{нд1}}$) — в 3,8 раза. Активность антиоксидантной антирадикальной защиты и перекисная резистентность были снижены, о чем свидетельствовало увеличение соответствующих параметров ($S_{\text{нд2}}$) в 5,2 раза и (H) в 4,3 раза (таблица).

Воздействие НПВП на фоне предварительного введения даларгина приводило к значительно менее выраженным изменениям показателей СРО. По сравнению с

Резюме

В экспериментально-клиническом исследовании проводили сравнительное изучение выраженности оксидативного стресса, воспалительной реакции и процессов апоптоза при воздействии НПВП и НПВП в сочетании с даларгинном. Установлено, что введение даларгина животным в дозе 100 мкг/кг достоверно ослабляло проявления оксидативного стресса, индуцируемого введением индометацина (250 мг/кг), в слизистой оболочке желудка белых мышей. Введение даларгина в дозе 0,002 г в течение 28 дн. больным с остеоартрозом, получавшим диклофенак (0,05 г), снижало выраженность воспалительной реакции и угнетало апоптоз в слизистой оболочке желудка. Полученные данные объясняют высокую эффективность даларгина при НПВП-гастропатиях. Наряду с установленным ранее повышением пролиферативного потенциала, введение даларгина ослабляет выраженность воспалительных реакций, процессов апоптоза и оксидативного стресса.

Ключевые слова: НПВП-гастропатия, свободнорадикальное окисление, апоптоз, даларгин, диклофенак.

E.Yu. Zhivotova, N.A. Bolonaeva, M.Yu. Fleishman,
A.N. Evseev, L.P. Isaenko, O.A. Lebedko, E.N. Sazonova,
S.A. Alexeenko, S.S. Timoshin

EFFECT OF DALARGIN TREATMENT ON PREVENTION OF NSAID-INDUCED GASTROPATHY, OXIDATIVE STRESS AND APOPTOSIS IN GASTRIC MUCOSA (EXPERIMENTAL AND CLINICAL STUDY)

The Far eastern state medical university; Khabarovsk Faculty of State Founding Far-Eastern Scientific Center of Scientific research institute of Mother and Child Care; Consultative and «Diagnostic Center «Viveya», Khabarovsk

Summary

In experimental and clinical research the comparative study of degree of oxidative stress, inflammation and apoptosis under the influence of NSAIDs and NSAID in combination with dalargin were studied. It was found that dalargin treatment of animals in the dose of 100 mg/kg significantly reduced the degree of oxidative stress induced by indomethacin treatment (250 mg/kg) in the gastric mucosa of white mice. Dalargin treatment in the dose of 0,002 g for 28 days in patients with osteoarthritis treated with diclofenac (0,05), reduced significantly severity of gastric mucosa damage as well as apoptosis. The obtained data explain the high efficiency of dalargin on NSAID gastropathy. It had been previously proved that dalargin increased proliferative capacity. Dalargin treatment reduced the degree of inflammatory responses, apoptosis and oxidative stress.

Key words: NSAID-gastropathy, oxidative stress, apoptosis, dalargin, diclofenac.

интактным контролем, $S_{\text{сн}}$ увеличилась в 1,7 раза, h и $S_{\text{нд1}}$ — в 1,6 раза, $S_{\text{нд2}}$ — в 1,3 раза, H — в 1,2 раза (таблица). Результаты экспериментального исследования свободнорадикального статуса в определенной степени объясняют изменения гистоморфологической картины при использовании даларгина для коррекции лечения диклофенаком.

Влияние даларгина на индуцированные индометацином изменения показателей хемилюминесценции гомогенатов желудка белых мышей (M±m)

Показатель (отн.ед.)	Контроль	Индометацин	Даларгин + индометацин
S _{сн}	1,04±0,06	3,52±0,21*	1,75±0,09**
h	1,52±0,08	4,31±0,27*	2,44±0,10**
S _{нд 1}	2,43±0,09	9,24±0,51*	3,98±0,19**
H	1,58±0,07	6,77±0,32*	2,11±0,13**
S _{нд 2}	0,86±0,05	4,45±0,21*	1,05±0,08**

Примечание. * — p<0,05 по отношению к группе «контроль»; ** — p<0,05 по отношению к группе «индометацин».

Важным фактом является то обстоятельство, что сочетанная терапия «диклофенак+даларгин» по сравнению с монотерапией диклофенаком достоверно уменьшила степень поражения СОЖ, по данным эндоскопического исследования. В то время как у больных, получавших монотерапию диклофенаком, эндоскопический показатель поражения СОЖ по [8] составил 6,67±0,67, в группе сочетанного приема диклофенака и даларгина этот показатель был достоверно меньше — 2,91±0,5 (p<0,01). При этом степень воспалительных и иммунных реакций в СОЖ пациентов, получавших даларгин, была менее выражена, чем при монотерапии диклофенаком.

В гастробиоптатах антрального отдела желудка больных, получавших диклофенак, морфологические изменения носили очаговый или диффузный характер, захватывали как поверхностные, так и глубокие слои. В отдельных случаях имело место преобладание дистрофических изменений и некроза преимущественно поверхностных эпителиальных структур, а также отек и очаговые кровоизлияния в подслизистой оболочке. В собственном слое СОЖ присутствовали гиперемия, стазы в микроциркуляторном русле, очаговые кровоизлияния, лимфоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофилов, очаги отека и склероза стромы, признаки атрофии желез. В ряде гастробиоптатов были выявлены признаки острых эрозий.

У больных, получавших диклофенак и даларгин, морфологические изменения носили менее выраженный характер: слабая инфильтрация мононуклеарами СОЖ при наличии слабой активности воспалительного процесса, очаговый фиброз стромы. Эрозии СОЖ, лимфоидные фолликулы, очаги кишечной метаплазии не регистрировались.

Детекция апоптоза у больных обеих групп свидетельствовала, что применение даларгина снижает уровень процесса программированной клеточной гибели. В то время как у больных, получавших диклофенак 28 дн., выраженность апоптоза составила 2,82±0,51 балла, при коррекции НПВП-гастропатии даларгином этот показатель уменьшился до 1,5±0,15 балла (p<0,05).

Апоптоз является одним из путей освобождения клеточной популяции от aberrантных клеток, которые могут привести к злокачественному перерождению. Следует отметить, что снижение уровня апоптозных клеток в настоящих исследованиях не несет в себе угрозы канцерогенеза. В литературе имеются сведения о способности даларгина угнетать канцерогенез [1]. Причина уменьшения уровня апоптозных тел при корригирующей терапии даларгином, по-видимому, обусловлена несколькими взаимодей-

полняемыми факторами. Прежде всего, это наблюдаемое в настоящих исследованиях ослабление выраженности воспалительной реакции. Воспаление оценивается как дополнительный путь активации апоптоза, помимо воздействий, напрямую стимулирующих программированную клеточную гибель [5]. Другой возможной причиной уменьшения уровня апоптозных тел при коррекции гастропатического действия диклофенака даларгином может быть антиоксидантная и антирадикальная активность даларгина. Согласно общепринятым представлениям, проапоптотический эффект индометацина реализуется через активацию свободнорадикального окисления [9, 12, 13, 15], а антиоксиданты, обладающие гастропротективным действием [7, 14], снижают уровень апоптоза.

Таким образом, гастропротективный эффект даларгина в условиях НПВП-гастропатии обусловлен несколькими взаимосвязанными механизмами. Наряду с повышением пролиферативного потенциала и ослаблением воспалительных реакций, это способность ослаблять апоптоз на фоне снижения проявлений оксидативного стресса.

Л и т е р а т у р а

1. Анисимов В.Н., Борткевич С.М. Тормозящее влияние синтетического аналога лейэнкефалина даларгина на канцерогенез // Вопросы онкологии. - 1990. - Т. 36, №4. - С. 556-559.
2. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: мет. рек. - СПб., 2000. - С. 198.
3. Болоняева Н.А., Животова Е.Ю., Флейшман М.Ю. и др. Применение даларгина для профилактики и лечения НПВП-гастропатий // Дальневост. мед. журнал. - 2005. - №2. - С. 62-66.
4. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Свободные радикалы в живых системах // ВИНТИ АН ССР: Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. - М., 1991. - Т. 29. - С. 147.
5. Кононов А.В., Мозговой С.И., Ливзан М.А. и др. Морфология поверхностного и атрофического хронического гастрита при эрадикации *Helicobacter pylori* // Арх. патологии. - 2005. - №3. - С. 17-21.
6. Demura T., Zadonskaya J., Litvinova N. et al. MMP-1, MMP-9, TIMP-1, VEGF, Ki-67 and apoptosis in endometrial hyperplasia in premenopausal women: what is new // Folia hystochemica et cytobiologica. - 2008. - №46. - S. 2. - P. 40.
7. Dursun H., Bilici M., Albayrak F. et al. Antiulcer activity of fluvoxamine in rats and its effect on oxidant and antioxidant parameters in stomach tissue // BMC Gastroenterol. - 2009. - Vol. 9. - P. 36.
8. Euler A.R., Safdi M, Rao J. et al. A report of three multiclinic trials evaluating arbabprostil in arthritic patients with ASA/NSAID gastric mucosal damage. The Upjohn Company Arbabprostil ASA/NSAID Gastric Mucosal Damage Treatment Study Groups // Gastroenterology. - 1990. - Vol. 98, №6. - P. 1549-1557.
9. Fukumoto K., Naito Y., Takagi T. et al. Role of tumor necrosis factor-α in the pathogenesis of indomethacin-induced small intestinal injury in mice // Int. J. Mol. Med. - 2011. - Vol. 27(3). - P. 353-359.
10. Kuzmenko A.I. Characterization of H₂O₂ - initiated oxidation of blood serum lipids by kinetic parameters // West. Med. J. - 1999. - Vol. 71, №4. - P. 63-66.

11. Lam K. Y., Lo C.Y., Wat N.M.S. et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas // Journal of Clinical Pathology. - 2001. - Vol. 54. - P. 443-448.

12. Omatsu T., Naito Y., Handa O. et al. Involvement of reactive oxygen species in indomethacin-induced apoptosis of small intestinal epithelial cells // J. Gastroenterol. - 2009. - Vol. 44, Suppl. 19. - P. 30-34.

13. Piccirillo S., Filomeni G., Brüne B. et al. Redox mechanisms involved in selective activation of Nrf2-mediated resistance versus p-dependent apoptosis in adenocarcinoma cell // Biol. Chem. - 2009. - Vol. 284(40). - P. 27721-27733.

14. Suleyman H., Cadirci E., Albayrak A. et al. Comparative study on the gastroprotective potential of some antidepressants in indomethacin-induced ulcer in rats // Chem. Biol. Interact. - 2009. - Vol. 180(2). - P. 318-324.

15. Tamaki K., Otaka M., Takada M. et al. Evidence for Enhanced Cytoprotective Function of HSP90-Overexpressing Small Intestinal Epithelial Cells // Dis. Dis.Sci. - 2011.

Координаты для связи с авторами: Животова Елена Юрьевна — канд. мед. наук, ст. науч. сотр. ЦНИЛ ДВГМУ, elena-jivotova@yandex.ru; Болоняева Наталья Александровна — гл. врач Консультативно-диагностического центра «Вивея», тел.: 8(4212) 45-15-40, e-mail: glavvrach.viveya@inbioh.ru; Флейшман Марина Юрьевна — канд. мед. наук, вед. науч. сотр. ЦНИЛ, e-mail: marfl@yandex.ru; Евсеев Алексей Николаевич — зав. кафедрой патологической анатомии ДВГМУ, e-mail: alexevseyev@yandex.ru; Исаенко Людмила Павловна — врач Консультативно-диагностического центра «Вивея»; Лебедько Ольга Антоновна — доктор мед. наук, вед. науч. сотр. НИИ ОМиД, e-mail: leoaf@mail.ru; Сазонова Елена Николаевна — зав. кафедрой нормальной физиологии ДВГМУ, e-mail: sazen@mail.ru; Алексеенко Сергей Алексеевич — зав. кафедрой госпитальной терапии ДВГМУ, тел.: 8(4212) 98-05-36, e-mail: alexeenko@mail.fesmu.ru; Тимошин Сергей Серафимович — зав. ЦНИЛ ДВГМУ, тел.: 8(4212) 32-99-64, e-mail: timoshinss@yandex.ru.

