

ИЗУЧЕНИЕ ГРАВИДОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА ЛИПИН НА МОДЕЛИ ПЛАЦЕНТАРНОЙ ДИСФУНКЦИИ

О. В. Кудина

Национальный фармацевтический университет

Поступила в редакцию 29.05.2014

Аннотация. Статья посвящена результатам исследования гравидопротекторных свойств препарата липин, содержащего эссенциальные фосфолипиды в липосомальной форме, на модели плацентарной недостаточности у крыс, вызванной введением серотонина гидрохлорида. Установлено, что введение серотонина гидрохлорида беременным самкам крыс вызывает существенные изменения гемореологических показателей, нарушение нормального течения процессов перекисного окисления липидов, усиление процессов цитолиза. Применение препарата липин приводит к значительной нормализации нарушенных показателей и проявлению им гравидопротекторного действия.

Ключевые слова: эссенциальные фосфолипиды, липин, липосомы, гравидопротекторы, серотонина гидрохлорид.

Abstract. The article is devoted to the study of gravidoprotective properties of the drug lipin containing essential phospholipids in liposomal form, on the model of placental insufficiency in rats caused by the administration of serotonin hydrochloride. It has been found that the administration of serotonin hydrochloride causes significant changes of hemorheological parameters and lipid peroxidation, increases cytolytic processes in rats. Lipin exerts gravidoprotective action normalizing these indicators.

Keywords: essential phospholipids, lipin, liposomes, gravidoprotectors, serotonin hydrochloride.

Ведущей проблемой современного акушерства продолжает оставаться плацентарная дисфункция (ПД), сопровождающаяся гипоксией и задержкой внутриутробного развития плода [1]. Поэтому своевременная профилактика и лечение ПД играют важнейшую роль в создании оптимальных условий для рождения здорового ребенка.

Фармакологическая «агрессия» и полипрагматизация в акушерской практике приводят к повышению частоты побочных эффектов как со стороны матери так и плода [2]. Исходя из этого, обоснованным является использование лекарственных препаратов природного происхождения и эндогенных метаболитов, оказывающих минимальные побочные эффекты и способных влиять комплексно на несколько звеньев патогенеза ПД: улучшать маточно-плацентарное кровообращение, нормализовать реологические свойства крови, усиливать антиоксидантную защиту и нормализовать процессы метаболизма. Этим требованиям отве-

чают гравидопротекторы. Этот термин объединяет в себе лекарственные препараты, способные уменьшить влияние повреждающих факторов на организм беременной и обеспечить нормальное течение беременности [3].

Особенное внимание современных ученых привлекает использование липосомальных фосфолипидов. В клинической практике нашел применение препарат липин (ЗАТ «Биолек», г. Харьков, Украина), который представляет собой искусственные фосфолипидные везикулы сферической формы с одним бислоем и внутренним водным пространством. Липин является лиофилизированным порошком для приготовления раствора для внутривенных инъекций. Содержит 95% яичного фосфатидилхолина и 5% фосфатидилэтаноламина. Зарегистрирован в Украине как антигипоксический и антиоксидантный препарат (по классификационной системе АТС относится к «Различным веществам, влияющим на пищеварительную систему и метаболизм», код А16А Х 10) [4]. Липин не обладает тератогенным, мута-

генным и эмбриотоксическим действием [5], значительно снижает уровень общей эмбриональной смертности на модели ПД [6]. За исключением индивидуальной непереносимости липин не имеет противопоказаний. Токсическая доза липина более 9-12 г на килограмм массы тела. Препарат хорошо переносится и разрешен к использованию при беременности в качестве антигипоканта и антиоксиданта [5]. Доклинические исследования данного препарата на моделях плацентарной недостаточности ранее не проводились, что и стало целью нашей работы.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Экспериментальные исследования выполнены в соответствии с «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Украина, 2001) в соответствии с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985).

В эксперименте использовали беременных самок белых нелинейных крыс (массою 200-220 г), выращенных в виварии Центральной научно-исследовательской лаборатории Национального фармацевтического университета (Украина, г. Харьков). Все экспериментальные животные содержались в стандартных санитарных условиях. Плацентарную недостаточность вызывали подкожным введением раствора серотонина гидрохлорида («Alfa Aesar» GmbH & Co KG) самкам крыс в дозе 2.5 мг/кг с 13-го по 17-й день беременности (период интенсивного формирования и роста плаценты). Данная модель была выбрана с целью воспроизведения одного из важнейших звеньев патогенеза ПД – нарушение микроциркуляции. Введение мощнейшего вазоконстриктора серотонина гидрохлорида беременным самкам приводит к развитию четкой картины плацентарной недостаточности, что проявляется повышением уровня пренатальной смертности плодов, нарушением архитектоники органа, расстрой-

ством кровообращения, дегенеративными и дистрофическими явлениями в плаценте [7].

Исследуемый препарат липин вводили один раз в день внутривенно в дозе 100 мг/кг с 11-го по 18-й день беременности, первый препарат сравнения «Эссенциале Н» («A. Nattermann and Cie GmbH», Германия) в дозе 30 мг/кг; второй референс-препарат «Дипиридамола» (ДЗ «ГНЦЛС», Украина) в дозе 3.2 мг/кг в аналогичном режиме. На 20-й день под легким эфирным наркозом проводили эктаназию методом декапитации и вскрытие самок [8]. Исследовали влияние препаратов на время свертывания крови [9], показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и цитолиза в сыворотке крови, изменения ПОЛ в печени, матке и плаценте беременных крыс [10, 11].

Статистическую обработку проводили с помощью программы «Statistica-5.0» методами вариационной статистики с расчетом таких показателей: среднего значения, стандартной ошибки среднего, достоверности отличий между группами сравнения по параметрическому критерию Стьюдента (t) в случаях нормального распределения; отличия считали достоверными при $p < 0.05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При плацентарной дисфункции, которая возникает в результате гемодинамических расстройств, развиваются ишемические нарушения, которые сопровождаются активизацией процессов ПОЛ. Исходя из этого, нами было исследовано влияние липина на показатели ПОЛ на данной модели.

Введение серотонина гидрохлорида (табл. 1) сопровождалось снижением времени свертывания крови на 33 %. Повышение данного показателя произошло под влиянием липина и дипиридамола – на 45 % и эссенциале – на 13 %. По влиянию на показатель времени свертывания крови липин не уступает референс-препарату дипиридамола и значительно превышает действие препарата сравнения эссенциале.

Таблица 1

Влияние липина и препаратов сравнения на время свертывания крови на модели серотониновой плацентарной недостаточности (n=10)

	Интактные животные	Контрольная патология	Липин	Эссенциале	Дипиридамола
Время свертывания крови, (с)	143.8 ± 3.6	96.4 ± 2.8 *	139.6 ± 4.8**@	109.3 ± 3.9 ***	140.3 ± 3.9 **

Примечания: * – отклонение, статистически значимое по отношению к группе животных интактного контроля, $p \leq 0.05$; ** – отклонение, статистически значимое по отношению к группе животных контрольной патологии, $p \leq 0.05$; @ — отклонение, статистически значимое по отношению к группе животных, получавших эссенциале, $p \leq 0.05$; n — количество животных в группе.

Значительные изменения ПОЛ и цитолиза произошли в сыворотке крови, печени, плаценте и матке крыс на модели ПД вызванной гемореологическими нарушениями (табл. 2).

Об усилении процессов ПОЛ свидетельствует повышение уровня ТБК-активных продуктов на 39 % в сыворотке крови животных контрольной патологии. По нормализации данного показателя липин (снижение на 39 %) имел преимущество по отношению к обоим препаратам сравнения, в группах которых достоверных значений не выявлено.

Введение серотонина гидрохлорида характеризовалось также угнетением антиоксидантной защиты организма беременных крыс, что подтверждается снижением уровня восстановленного глутатиона (ВГ) на 22%. Повышение данного показателя наблюдалось в группах животных получавших липин – на 58 % и дипиридабол – на 42 %. В группе животных, получавших эссенциале, достоверных изменений не обнаружено.

Маркером усиленного распада мембран является повышение уровня ферментов цитолиза в сыворотке крови. Введение серотонина гидрохлорида беременным самкам вызывало повышение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) на 30 %. Введение липина снижало активность АлАТ на 15 %, дипиридамола – на 25%, а эссенциале –

на 9%. По данному показателю липин не уступает дипиридаболу, превосходя препарат сравнения эссенциале.

Исследования, проведенные в гомогенате печени беременных крыс, показали, что введение серотонина гидрохлорида сопровождалось повышением уровня ТБК-активных продуктов на 80%. Применение липина способствовало значительному снижению этого показателя на 51%. Менее выраженное уменьшение уровня ТБК-активных продуктов наблюдалось и в группе животных получавших дипиридабол – на 22 %. Под влиянием второго референс-препарата эссенциале достоверные данные получены не были.

Значительное угнетение антиоксидантной защиты под воздействием изменений, вызванных серотонином, наблюдалось и в тканях печени, о чем свидетельствует снижение уровня ВГ на 52 % в группе животных контрольной патологии. Исследуемые препараты: липин, эссенциале, дипиридабол нормализовали данный показатель, повышая значение на 74 %, 66 %, и 44 % соответственно.

Органом-мишенью, который непосредственно поражается при данной патологии, является плацента, поэтому было интересным проследить изменения течения процессов ПОЛ в ней. Уровень ТБК-активных продуктов в тканях плацен-

Таблица 2

Изменение показателей ПОЛ и цитолиза в сыворотке крови, гомогенате печени, плаценте и матке беременных крыс (n=10)

Показатель	Интактные животные	Контрольная патология	Липин	Эссенциале	Дипиридабол
Изменение показателей ПОЛ и АлАТ в сыворотке крове беременных крыс					
ТБКАП (мкмоль/л)	0.44 ± 0.02	0.61 ± 0.025*	0.40 ± 0.03 **/D/@	0.73 ± 0.065 *	0.61 ± 0.05 *
ВГ (мкмоль/л)	1.61 ± 0.07	1.25 ± 0.05*	1.97 ± 0.11 ***/@	1.22 ± 0.05 *	1.78 ± 0.17 **/@
АлАТ (мккат/л)	0.36 ± 0.02	0.47 ± 0.01*	0.40 ± 0.01 **/@	0.43 ± 0.02 */**	0.35 ± 0.01 **/@
Изменение показателей ПОЛ в гомогенате печени беременных крыс					
ТБКАП (мкмоль/г)	50.9 ± 2.7	91.7 ± 3.9*	45.1 ± 1.1 **/@/D	104.6 ± 10.9 *	71.3 ± 3.2 ***/@
ВГ (мкмоль/г)	2.46 ± 0.08	1.19 ± 0.07*	2.07 ± 0.12 **	1.97 ± 0.17 */**	1.72 ± 0.08 ***/
Изменение показателей ПОЛ в гомогенате плаценты беременных крыс					
ТБКАП (мкмоль/г)	42.1 ± 3.1	112.2 ± 3.2*	44.5 ± 2.5 **/@/D	93.6 ± 4.7 */**	93.4 ± 6.6 ***/
ВГ (мкмоль/г)	2.3 ± 0.1	1.1 ± 0.06*	2.5 ± 0.08 **/@/D	1.6 ± 0.05 ***/	1.8 ± 0.1 ***/
Изменение показателей ПОЛ в гомогенате матки беременных крыс					
ТБКАП (мкмоль/г)	42.6 ± 1.4	53.2 ± 1.7*	39.9 ± 1.9 **/@/D	79.7 ± 6.8 ***/	60.3 ± 2.5 **/@
ВГ (мкмоль/г)	2.0 ± 0.06	1.1 ± 0.1*	1.9 ± 0.08 **/@	1.3 ± 0.09 ***/	1.8 ± 0.11 **/@

Примечания: * – отклонение, статистически значимое по отношению к группе животных интактного контроля, $p \leq 0.05$; ** – отклонение, статистически значимое по отношению к группе животных контрольной патологии, $p \leq 0.05$; @ – отклонение, статистически значимое по отношению к группе животных, получавших эссенциале, $p \leq 0.05$; D – отклонение, статистически значимое по отношению к группе животных, получавших дипиридабол, $p \leq 0.05$; n — количество животных в группе.

ты крыс контрольной патологии повысился в 2,7 раз, под действием липина произошло снижение этого показателя в 2,5 раза в сравнении с животными группы контрольной патологии, тогда как под действием референс-препаратов – в 1,2 раза. Исходя из этого, в тканях плаценты по уровню нормализации ТБК-активных продуктов липин также превосходит оба препарата сравнения.

Что же касается уровня ВГ в плаценте, то этот показатель в группе животных контрольной патологии снизился в 2 раза в сравнении с таковым у интактных животных. В группе животных, получавших липин, наблюдалось повышение в 2,3 раза уровня ВГ в сравнении с животными группы контрольной патологии. Это свидетельствует об усилении антиоксидантной защиты в тканях плаценты беременных самок на фоне введения препарата. В группах животных, получавших эссенциале, наблюдалось повышение данного показателя в 1,5 раза, дипиридамом – в 1,6 раза. Следовательно, и за показателем нормализации уровня ВГ в плаценте крыс липин превосходит препараты сравнения.

Представляло значительный интерес изучить также изменения антиоксидантного статуса, произошедшие в матке беременных крыс. Уровень продуктов избыточного процесса ПОЛ, а именно ТБК-активных продуктов, в матке животных группы контрольной патологии также был повышен (на 25 %) в сравнении с интактным контролем. Введение липина снизило этот показатель на 25%. Действие первого референс-препарата эссенциале обусловило повышение уровня ТБК-активных продуктов на 50 % в сравнении с контрольной патологией. Под действием препарата сравнения дипиридамола наблюдалось снижение данного показателя на 13%. Таким образом, липин достоверно снижает уровень ТБК-активных продуктов в матке беременных крыс, превышая данные показатели в группах животных, принимавших препараты сравнения.

На фоне введения серотонина гидрохлорида отмечено также снижение уровня ВГ на 15% в матке беременных крыс в сравнении с показателями здоровых животных, что также свидетельствует о снижении антиоксидантной защиты и в этом органе. По нормализации данного показателя липин (повышение на 73 %) не уступает референс-препарату дипиридамом (увеличение на 63 %) и превышает действие препарата сравнения эссенциале (повышение на 18 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Исходя из результатов исследований, можно сделать следующие выводы. На модели серотониновой плацентарной недостаточности липин проявляет выраженные гравидопротекторные свойства – значительно снижает уровень общей эмбриональной смертности, проявляет антиоксидантное действие – существенно снижает уровень процессов ПОЛ в сыворотке крови, печени, плаценте и матке беременных крыс в сравнении с животными группы контрольной патологии; липин способен также повышать антиоксидантную защиту в тканях маточно-плацентарного комплекса; достоверно нормализует время свертывания крови, устраняя цепь гемореологических нарушений при плацентарной дисфункции. Результаты исследования свидетельствуют о наличии у липина выраженного гравидопротекторного эффекта, превосходящего действие препаратов сравнения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Малевич Ю. К. Фетоплацентарная недостаточность / Ю. К. Малевич. — Минск: Беларусь, 2007. — 158 с.
2. Взаимодействие лекарств и эффективность фармакотерапии / Л. В. Деримедведь [и др.]. — Х. : Мегаполис, 2002. — 212 с.
3. Современные аспекты фармакологической коррекции плацентарной дисфункции / А. В. Зайченко [и др.] // Провизор. — 2008. — № 9 — С. 47-51.
4. Компендиум 2009 – лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. — К. : Морион, 2009 — 2224 с.
5. Грищенко О. В. Можливості ліпосомальної терапії в перинатології / О. В. Грищенко, Г. В. Сторчак, В. Г. Карпенко // Клін. фармація. — 2003. — Т.7. — № 3. — С. 47–50.
6. Зайченко Г. В. Експериментальне вивчення фетопротекторної дії препарату «Ліпін» на моделі плацентарної недостатності у щурів, що викликана гемодинамічними розладами / Г. В. Зайченко, О. В. Кудіна // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2008. — № 5-6. — С. 45-48.
7. Бутенко І. Г. Вплив серотоніну на стан фетоплацентарного комплексу у щурів / І. Г. Бутенко, Т. В. Деева, Л. М. Коптева // Клін. та експерим. патологія. — 2005. — Т. IV. — № 1. — С. 20–24.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / ред. колл. А. Н. Миронов [и др.]. — М. : Гриф и К, 2012. — 944 с.

9. Лабораторные методы исследования в клинике / В. В. Меньшиков [и др.]. — М. : Медицина, 1987. — 155 с.

10. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой

кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. — 1977. — С. 66-68.

11. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. — М., 1972. — 268 с.

Кудина Олеся Викторовна — ассистент, к. фарм.н, кафедра фармакологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина; e-mail: kudina81@mail.ru

Kudina Olesya V. — assistant, Ph.D in Pharmaceutical sciences, department of pharmacology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine; e-mail: kudina81@mail.ru