

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ЛІПІНУ НА МОДЕЛІ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОЇ ПЛАЦЕНТАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

О.В.Кудіна

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: фетоплацентарна недостатність; гравідопротектор; антиоксидантна дія; ліпін

Метою дослідження було вивчення антиоксидантної дії ліпосомального фосфатидилхоліну — препарату “Ліпін” на моделі тетрахлорметанової плацентарної недостатності. Під дією тетрахлоретану розвивається значне пошкодження біомембран клітин матково-плацентарного комплексу. Дослідження проводили на 50 вагітних самках безпородних білих щурів. Референс-препаратом слугував препарат “Есенціале®Н”. Вивчення антиоксидантно-прооксидантного статусу проводилось у сироватці крові, тканинах міометрію, плаценти та печінки вагітних щурів. Результати дослідження виявили здатність препарату “Ліпін” інгібувати процеси ПОЛ та підтримувати належний рівень антиоксидантного захисту організму як у сироватці крові, так і у тканинах матково-плацентарного комплексу. На моделі тетрахлорметанової плацентарної недостатності ліпін виявляє мембранопротекторну дію з боку плаценти та печінки, значно знижує рівень печінкових ферментів, що свідчить про його здатність усувати деструктивні процеси як у цілому в організмі вагітних щурів, так і в зазначених органах.

Однією з головних причин перинатальної захворюваності та смертності є фетоплацентарна недостатність (ПН) [2, 11-13, 16]. ПН — клінічний синдром, обумовлений морфологічними та функціональними змінами в плаценті, що ведуть до порушень стану, росту та розвитку плода [3, 7, 13, 14, 18]. Частота ПН коливається від 3-4% до 45%, перинатальна захворюваність досягає 700%, а смертність — 24,2-177,4%. Загальна частота захворюваності новонароджених при ПН досягає 802% [2, 16].

За умов розвитку ПН посилюються процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), знижується антиоксидантна активність, що є досить важливою ланкою ушкодження клітинних мембран плаценти та порушення їх проникності. Зазначені ушкоджуючі фактори запускають патогенетичні механізми, які призводять до гіпоксії плода [6, 10, 20].

Неабияке значення в терапії ПН має нормалізація антиокси-

дантної системи та тканинного метаболізму, що позитивно впливає на транспортну функцію плаценти, а також зменшує можливість реперфузійних ушкоджень у період активного лікування [22].

Сучасним та перспективним напрямком у медицині та фармації є ліпосомальна терапія [19, 21].

В акушерській практиці знайшов застосування ліпосомальний препарат “Ліпін” (ЗАТ “Біолік”) [3, 9]. Ліпін містить 95% яєчного фосфатидилхоліну та 5% фосфатидилетаноламіну. Цей оригінальний препарат розроблений українськими науковцями Інституту фармакології і токсикології АМН України під керівництвом академіка А.В.Стефанова.

Ліпін виявляє широкий спектр терапевтичної дії. Завдяки тому, що ліпін підвищує інтенсивність дифузії кисню з крові в тканини, він чинить антигіпоксичну дію, нормалізує процеси тканинного дихання [3]. Ліпін здатен пригнічувати процеси надмірного перекисного окиснення ліпідів, під-

вищує активність власне антиоксидантних систем самого організму, володіє мембранопротекторним ефектом. Крім того, під впливом ліпіну спостерігається збільшення кількості Т- і В-лімфоцитів [3, 15, 17]. Під впливом препарату відновлюється функціональна активність ендотеліоцитів і, що досить важливо, стимулюється утворення і вивільнення ендотеліального розслаблюючого фактору; ліпін здатен значно покращувати реологічні властивості крові та мікроциркуляцію [3, 15].

Завдяки наявності таких властивостей ліпін знайшов широке застосування у клінічній практиці і активно впроваджується у перинатальну та акушерську практику. Метою нашої роботи було вивчення впливу препарату на стан антиоксидантної системи вагітних щурів на моделі тетрахлорметанової плацентарної недостатності.

Матеріали та методи

Дослідження проводили відповідно до вимог біоетики на щурах, вирощених у розпліднику ЦНДЛ НФаУ, відповідно до санітарно-гігієнічних умов.

При постановці дослідів використовували вагітних самок експериментальних тварин — безпородних білих щурів масою 180-280 г. При відборі тварин для експерименту самок із встановленим естральним циклом у фазі еструсу підсаджували до самців з розрахунку 2 самки на 1 самця. Дату 1-го дня вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у мазках вагітних щурів [1, 8].

Плацентарну недостатність у вагітних самок викликали шляхом введення олійного розчину тетрахлорметану (1:1) на 12, 13, 14, 15-й день вагітності. Ці терміни відповідають періоду органогенезу у щурів. Токсин вводили тваринам у ранкову годину до прийому їжі внутрішньошлунково у дозі 0,4 мл на 100 мг/кг маси щура відповідно до методики Гунського Ю.І. та Позднякова В.С. у нашій модифікації. Для дослідження використовували 5 груп тварин по 10 щурів у групі. Тварини першої групи були інтактним контролем, друга група тварин — група контрольної патології з 12-го по 15-й день вагітності одержувала олійний розчин тетрахлорметану у вищезазначеній дозі. Третя група тварин отримувала препарат порівняння “Есенціале®Н” внутрішньовенно у дозі 30 мг/кг з 11-го до 16-го дня вагітності. Четверта група тварин — досліджуваний препарат “Ліпін” в/в у дозі 100 мг/кг, п’ята група тварин отримувала “Ліпін” у дозі 50 мг/кг з 11-го до 16-го дня вагітності у лікувально-профілактичному режимі.

На 20-й день вагітності під легким ефірним наркозом проводили евтаназію та розтин самок. Для дослідження впливу препаратів на стан показників ПОЛ у вагітних щурів на тлі гострої тетрахлорметанової плацентарної недостатності у тварин брали кров, з якої готували сироватку, проводили забір внутрішніх органів: матки, плаценти, печінки.

Інтенсивність перебігу процесів ПОЛ у гомогенаті матки, плаценти, печінки оцінювали за результатами визначення ТБК-активних продуктів та відновленого

глутатіону. В сироватці крові визначали кількість ТБК-активних продуктів, відновленого глутатіону (ВГ) та АЛАТ.

Статистичну обробку проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу та критерію Ньюмена-Кейлса з використанням програми Statistica — 5.0.

Результати та їх обговорення

Під час проведення дослідження не спостерігалось загибелі тварин під впливом токсину. Плоди щурів в усіх дослідних групах були без зовнішніх ушкоджень. Загибелі плодів не спостерігалось.

Тетрахлорметан — ксенобіотик, який широко використовується для створення експериментальної моделі пошкодження біомембран клітин різних органів. Вплив тетрахлорметану супроводжується вираженим порушенням ферментативної активності мембран ендоплазматичного ретикулуму, мітохондрій та ушкодження білоксинтезуючого апарату гепатоцитів. Експериментальне токсичне ураження печінки та плаценти призводить до стимуляції адаптаційних клітинних реакцій, що виявляється у збільшенні рівня цАМФ і деякому зниженні цГМФ.

У сироватці крові вагітних щурів під впливом олійного розчину тетрахлорметану кількість ТБК-активних продуктів збільшилась на 47,7% у порівнянні з групою інтактних тварин, що є наслідком підвищення рівня процесу ПОЛ в організмі вагітних самок (табл.). У групі тварин, які отримували препарати “Ліпін” та “Есенціале”, рівень ТБК-активних продуктів знижувався у порівнянні з тваринами групи контрольної патології під впливом препарату порівняння “Есенціале” на 33,8%, під впливом ліпіну у дозі 50 мг/кг — на 29,2% та під впливом ліпіну у дозі 100 мг/кг — на 32,3%. Тобто, під впливом препарату “Ліпін” (100 мг/кг) рівень ТБК-активних продуктів досяг рівня інтактного контролю, що свідчить про значне зниження процесів ПОЛ в організмі вагітних щурів.

Рівень відновленого глутатіону, що є показником антиоксидантного статусу організму, у сироватці крові вагітних щурів групи контрольної патології зменшився на 23,6% у порівнянні зі здоровими тваринами (табл.). Препарат порівняння не сприяв підвищенню рівня G-SH, а під впливом ліпіну (50 мг/кг) рівень G-SH збільшився на 21,1%, у дозі 100 мг/кг — на 29,3% (тобто досяг рівня групи здорових тварин). Під впливом ліпіну у дозі 50 мг/кг і 100 мг/кг відбулося значне підвищення рівня G-SH у сироватці крові вагітних щурів, що значно перевищує за цим показником препарат порівняння “Есенціале”.

Біохімічним маркером ушкодження клітин печінки є підвищений рівень АЛАТ у сироватці крові. У групі тварин контрольної патології рівень цього ферменту зріс на 55,5%, що свідчить про серйозні деструктивні порушення цього органу-мішені. У групі тварин, які отримували есенціале, цей показник знизився на 25% у порівнянні з тваринами групи контрольної патології. На такий же самий відсоток відбулося зниження рівня АЛАТ у групі тварин, які отримували ліпін (50 мг/кг), тобто за цим показником ліпін у дозі 50 мг/кг подібний до препарату порівняння. А під впливом ліпіну у дозі 100 мг/кг зниження рівня АЛАТ відбулося на 30,4%, що на 5,4% вище за препарат порівняння. Оскільки саме печінка зазнає токсичного впливу тетрахлорметану, становило інтерес вивчення стану процесів ПОЛ та антиоксидантного захисту в цьому органі (табл.). Підвищення рівня ТБК-активних продуктів у тканинах печінки вагітних щурів групи контрольної патології відбулося на 135,8%, що свідчить про значне підвищення рівня ПОЛ. Під впливом препарату порівняння зниження рівня ТБК-активних продуктів відбулося на 51,4%, ліпіну (50 мг/кг) — на 53,8%, що на 2,4% вище за препарат порівняння. Більший відсоток зниження процесів ПОЛ виявив ліпін у дозі 100 мг/кг — на 56,4%,

Динаміка показників перекисного окиснення ліпідів у сироватці крові, гомогенаті печінки, плаценти та міометрію вагітних щурів, n=50

Показник	Контрольна патологія, n=10	Інтактні тварини, n=10	Есенціале, n=10	Ліпін, 100 мг/кг, n=10	Ліпін, 50 мг/кг, n=10
Зміна показників ПОЛ, АЛАТ у сироватці крові вагітних щурів					
ТБК, мкмоль/л	0,65±0,023*	0,44±0,020	0,43±0,036**	0,44±0,027**	0,46±0,025**
ВГ, мкмоль/л	1,23±0,040*	1,61±0,068	1,21±0,081*	1,59±0,103**/**	1,49±0,055**
АЛАТ, мккат/л	0,56±0,014*	0,36±0,021	0,42±0,013**	0,39±0,017**	0,42±0,016**
Зміна показників ПОЛ у гомогенаті печінки вагітних щурів					
ТБК, мкмоль/л	120,00±8,249*	50,90±2,696	58,33±3,861**	52,31±2,152**	55,38±3,911**
ВГ, мкмоль/л	1,96±0,064*	2,46±0,078	2,54±0,115**	2,62±0,084**	2,44±0,105**
Зміна показників ПОЛ у гомогенаті плаценти вагітних щурів					
ТБК, мкмоль/л	75,77±2,638*	42,05±3,139	52,05±4,073**	44,49±2,269**	50,26±3,661**
ВГ, мкмоль/л	1,46±0,113*	2,30±0,142	2,35±0,083**	2,60±0,083**	2,31±0,082**
Зміна показників ПОЛ у тканинах міометрію вагітних щурів					
ТБК, мкмоль/л	61,03±3,561*	44,62±1,993	52,82±3,423	40,77±2,846**/**	42,57±2,89**/**
ВГ, мкмоль/л	1,50±0,077*	2,05±0,060	1,92±0,154**	2,12±0,095**	2,00±0,079**

Примітки (тут та на рис. 1-4):

- 1) * — відхилення, достовірне до інтакту, $p \leq 0,05$;
- 2) ** — відхилення, достовірне до контрольної патології, $p \leq 0,05$;
- 3) *** — відхилення, достовірне до есенціале, $p \leq 0,05$.

що майже відповідає рівню ТБК-активних продуктів у тканинах печінки вагітних щурів групи інтактного контролю (на 5,0% вище за препарат порівняння). Тоб-

то можна зробити висновок, що усі досліджувані препарати вірогідно знижують рівень ТБК-активних продуктів у сироватці крові вагітних щурів, але все ж таки більша ефективність притаманна ліпину у дозі 100 мг/кг.

Рівень відновленого глутатіону в тканинах печінки вагітних щурів групи контрольної патології знизився на 20,3%, що свідчить про порушення антиоксидантної системи в цьому органі. Досліджувані препарати значно підвищили рівень відновленого глутатіону в тканинах печінки вагітних щурів. Так, під впливом препарату порівняння рівень G-SH збільшився на 29,6% у порівнянні з контрольною патологією, під впливом ліпину в дозі 50 мг/кг — на 24,5% та під впливом ліпину в дозі 100 мг/кг — на 33,7%, що перевищує препарат порівняння за цим показником на 4,1% та під впливом ліпину в дозі 100 мг/кг — на 9,2%.

За умов розвитку ПН, звичайно, органом-мішенню є плацента (як і тканина печінки належить до органів паренхіматозної струк-

тури) (табл.). Тому вивчення змін антиоксидантного статусу в цій структурі є важливим аспектом нашого дослідження. Під впливом токсину рівень ТБК-активних продуктів у групі тварин контрольної патології підвищився на 80,2% у порівнянні зі здоровими тваринами, що свідчить про значне підвищення рівня ПОЛ у тканинах плаценти. У групах тварин, яких лікували есенціале та ліпіном у дозі 50 мг/кг, рівень ТБК-активних продуктів знизився на 31,3% та 33,7% відповідно (ліпін у дозі 50 мг/кг ефективніший за цим показником за препарат порівняння на 2,4%). Ще кращі результати виявив ліпін у дозі 100 мг/кг: рівень ТБК-активних продуктів майже досяг цього рівня в інтактних тварин (зменшився на 41,3% у порівнянні з тваринами групи контрольної патології) (рис. 1).

Що ж стосується антиоксидантного статусу в тканинах плаценти вагітних щурів, то він значно знизився в групі тварин контрольної патології у порівнянні з інтактом на 36,5%, що свідчить

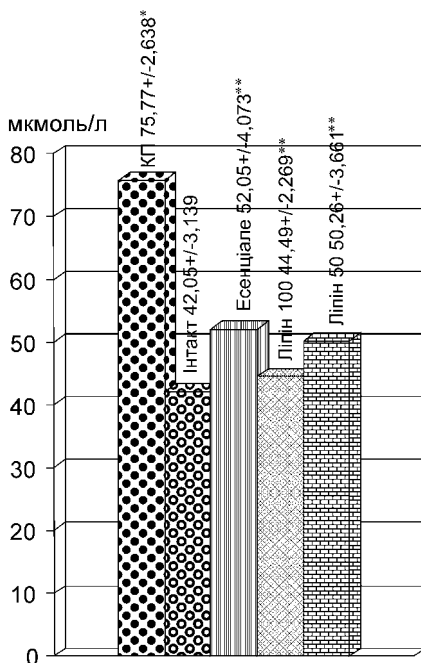


Рис. 1. Зміна показників ТБК-активних продуктів у гомогенаті плаценти вагітних щурів

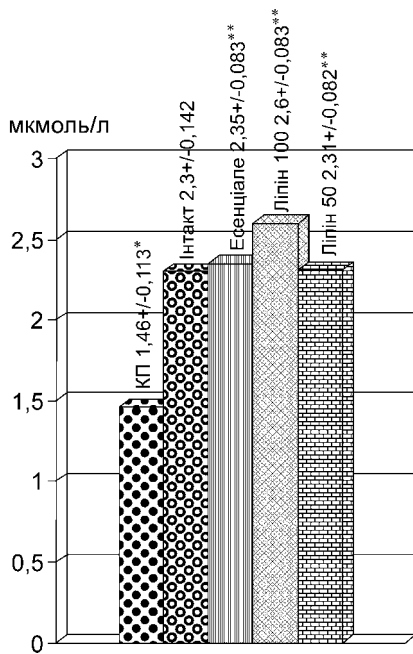


Рис. 2. Зміна показників G-SH у гомогенаті плаценти вагітних щурів

про значне порушення антиоксидантного статусу в тканинах плаценти вагітних щурів. Під впливом препаратів есенціале та ліпіну в дозі 50 мг/кг антиоксидантний статус у тканинах плаценти зріс на 60, 9% та 58,2% відповідно (майже досяг рівня інтактного контролю). А ось ліпін у дозі 100 мг/кг підвищив рівень ВГ аж на 78,1% у порівнянні з контрольною патологією (дещо навіть вищий, ніж у групі здорових тварин) (рис. 2).

Вивчення стану ПОЛ у тканинах міометрію було також досить важливим моментом нашого дослідження, оскільки міометрій має спільний кровообіг з тканинами плаценти та є ще одним органом-мішенню за умов розвитку ПН (табл. 1) і, як свідчать результати нашого дослідження, в ньому відбуваються значні зміни. Рівень ТБК-активних продуктів у тканинах міометрію щурів групи контрольної патології підвищився на 36,8%, що свідчить про посилення перебігу процесів ПОЛ. Під дією ліпіну в дозі 50 мг/кг зниження показника ТБК-активних продуктів відбулося на 30,2%, ще більший відсоток пригнічення процесів ПОЛ спостерігався у групі тварин, які отримували ліпін у

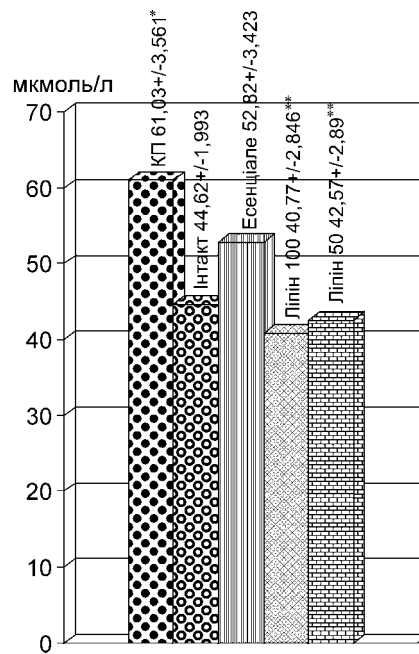


Рис. 3. Зміна показників ТБК-активних продуктів у тканинах міометрію вагітних щурів

дозі 100 мг/кг — на 33,2% у порівнянні з тваринами групи контрольної патології. Препарат порівняння вірогідних значень при цьому не набув. Вірогідними виявилися результати по відношенню до препарату порівняння у групі тварин, які отримували ліпін, як у дозі 50 мг/кг, так і у дозі 100 мг/кг (зниження ТБК-активних продуктів відбулося ефективніше на 19,4% та 22,8% відповідно у порівнянні з групою тварин, які отримували есенціале). Тобто слід зробити висновок, що за цим показником ліпін виявив значну ефективність та очевидну перевагу по відношенню до препарату порівняння (рис. 3).

Рівень відновленого глутатіону в тканинах міометрію вагітних щурів групи контрольної патології знизився на 26,8% у порівнянні зі здоровими тваринами, що говорить про падіння антиоксидантного захисту в цьому органі. Досліджувані препарати підвищували рівень G-SH у тканинах міометрію: есенціале на 28% у порівнянні з тваринами групи контрольної патології, ліпін (50 мг/кг) — на 33,3% (що вище за препарат порівняння на 5,3%), ліпін (100 мг/кг) — на 41,3% (вище за препарат порівняння на 13,3%).

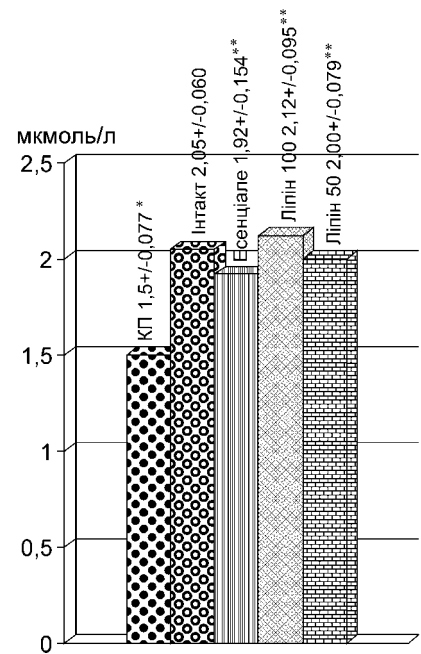


Рис. 4. Зміна показників G-SH у тканинах міометрію вагітних щурів

Слід зробити висновок, що саме в тканинах міометрію ліпосомальний препарат “Ліпін” має значну перевагу як за показниками ТБК-активних продуктів, так і відновленого глутатіону (рис. 4).

ВИСНОВКИ

1. Ліпосомальний препарат “Ліпін” виявляє антиоксидантну дію як у дозі 50 мг/кг, так і у дозі 100 мг/кг на моделі тетрахлорметанової плацентарної недостатності у щурів.

2. Препарат “Ліпін” у дозі 100 мг/кг перевищує за антиоксидантною дією препарат порівняння “Есенціале®Н”, а у дозі 50 мг/кг виявляє таку ж саму ефективність.

3. Препарат “Ліпін” здатен інгібувати процеси ПОЛ та підтримувати належний рівень антиоксидантного захисту організму як у сироватці крові, так і у тканинах матково-плацентарного комплексу.

4. На моделі тетрахлорметанової плацентарної недостатності ліпін виявляє мембранопротекторну дію з боку плаценти та печінки, значно знижує рівень печінкових ферментів, що свідчить про його здатність усувати деструктивні процеси як у цілому організмі вагітних щурів, так і в зазначених органах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамченко В.В. Антиоксиданти и антигипоксанты в акушерстве (Оксидативный стресс и его терапия антиоксидантами и антигипоксантами). — С.Пб.: Изд-во ДЕАН, 2001. — 400 с.
2. Афанасьева Н.В., Стрижаков А.Н. //Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2004. — Т. 3, №2. — С. 7-13.
3. Грищенко О.В., Сторчак Г.В., Карпенко В.Г. //Клінічна фармація. — 2003. — Т. 7, №3. — С. 47-50.
4. Грищенко О.В., Сторчак Г.В., Пак С.О., Шевченко О.І. Застосування ліпіну для перинатального дистрес-синдрому новонароджених у вагітних з урогенітальною інфекцією //Внутрішньоутробні (вроджені) інфекції новонароджених: Матер. І конгр. неонатологів України. — Х., 1998. — С. 90-92.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. член-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
6. Качалина Т.С., Лебедева Н.В., Ильина Л.Н. //Вопр. гинекол., акушерства и перинатол. — 2007. — Т. 6, №1. — С. 2-4.
7. Клінічні протоколи та нормативи надання допомоги (Акушерство і гінекологія) Нормативне виробничо-практичне видання. — К.: МНІАУ медичної статистики, МВУ “Медінформ”, 2005. — 372 с.
8. Коколина В.Ф., Картелишев А.В., Васильева О.А. Фетоплацентарная недостаточность (патогенез, диагностика, терапия, профилактика): Руководство для врачей.— М.: ИД МЕДПРАКТИКА — М, 2006, 224 с.
9. Матвиенко П.В. //Провизор. — 2003. — №5. — С. 44-48.
10. Методичні рекомендації по експериментальному вивченню ембріотоксичної дії лікарських засобів. — К., 2000. — 42 с.
11. Мусаев З.М., Наумчик Б.И., Буданцева А.В. Актуальные вопросы акушерства и гинекологии. — М.-Сургут, 2000. — С. 99-102.
12. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных: Руководство для врачей. — С.Пб.: Изд-во “Питер”, 2000. — 224 с.
13. Серов В.Н., Сидельникова В.М., Агаджанова А.А. //Русс. мед. журн. — 2003. — Т. 11, №6. — С. 89.
14. Сидорова И.С., Макаров И.О. Клинико-диагностические аспекты фетоплацентарной недостаточности. — М.: Медицинское информационное агентство, 2005. — 296 с.
15. Стефанов О.В., Туманов В.А., Горчакова Н.О. та ін. //Ліки. — 2002. — №3-4. — С. 70-72.
16. Стрижаков А.Н., Тимохина Т.Ф., Баев О.Р. //Вопр. гинекол., акушерства и перинатол. — 2003. — Т. 2, №2. — С. 53-64.
14. Черный В.И., Дацко А.А., Килимниченко О.И. и др. //Біль, знеболювання, інтенсивна терапія. — 2002. — №1. — С. 65-79.
18. Botasheva T.L., Zamanskaya T.A. //Ultraschall in Med. — 2005. — Vol. 26. — P. 324.
19. Bueno da Costa M.H. Desing of a modern liposome and bee venom formulation for the traditional VIT-venom immunotherapy //International Liposome Society. Annual Meeting. School of Pharmacy, University of London, December 8-11, 2007.
20. Habek D., Habek J.C., Jugovic D., Salihagic A. //Acta Med. Croatica. — 2002. — Vol. 56, №3. — P. 109-118.
21. Park John W. Liposome-based agents: new drug delivery and targeting strategies //International Liposome Society. Annual Meeting. School of Pharmacy, University of London, December 8-11, 2007.
22. Salafia Carolyn M. //Clinical Obstetrics & Gynecology. — 2006. — Vol. 49, №2. — P. 236-256.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова 12, Тел. (057) 706-30-69.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.05.2008 р.