



О.В. Кудина

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕФРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ НА МОДЕЛИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БЕРЕМЕННЫХ САМОК КРЫС

*Национальный фармацевтический университет,
кафедра фармакологии,
Украина, 61002, г. Харьков, ул. Мельникова, 12. E-mail: kudina81@mail.ru*

Цель: исследование нефропротекторного действия липосомальных эссенциальных фосфолипидов на модели эндотелиальной дисфункции (экспериментальный гестоз) у беременных самок крыс, вызванной ингибированием синтазы оксида азота.

Материалы и методы: эндотелиальную дисфункцию вызывали введением беременным самкам крыс раствора N ω -нитро-L-аргинина в период гестации. Исследуемые препараты: эссенциальные фосфолипиды и препарат сравнения молсидомин. Действие препаратов оценивали по величине артериального давления, уровню белка в моче и морфологическому исследованию тканей почек.

Результаты: введение эссенциальных фосфолипидов в липосомальной форме способствовало достоверному снижению повышенного артериального давления, уменьшению протеинурии и нормализации морфоструктуры тканей почек беременных крыс.

Заключение: выявлено нефропротекторное действие эссенциальных фосфолипидов в липосомальной форме на фоне эндотелиальной дисфункции.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, гестоз, эссенциальные фосфолипиды, нефропротекторы, N ω -нитро-L-аргинин.

O.V. Kudina

PHARMACOLOGICAL STUDY OF NEPHROPROTECTIVE ACTION OF LIPOSOMAL ESSENTIAL PHOSPHOLIPIDS ON THE MODEL OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PREGNANT RATS

*National University of Pharmacy,
Pharmacology department
12 Melnikova str., Kharkov, 61002, Ukraine. E-mail: kudina81@mail.ru*

Purpose: to study the nephroprotective action of liposomal essential phospholipids on the model of endothelial dysfunction (experimental gestosis) in pregnant rats induced by inhibition of nitric oxide synthase.

Materials and methods: endothelial dysfunction was caused by administration of N ω -nitro-L-arginin solution during gestation in pregnant rats. Study drugs: essential phospholipids and the reference drug molsidomine. The effect of treatment was evaluated by a blood pressure value, level of protein in urine and morphological study of kidney tissue.

Results: essential phospholipids in liposomal form have significantly decreased high blood pressure, diminished proteinuria and normalized the morphological structure of kidney tissue in pregnant rats.

Summary: nephroprotective effect of essential phospholipids liposomal form in endothelial dysfunction was found.

Keywords: endothelial dysfunction, gestosis, essential phospholipids, nephroprotective action, N ω -nitro-L-arginin.



Введение

Гестоз – осложнение при беременности, которое характеризуется генерализованным сосудистым спазмом с нарушением перфузии и расстройством жизненно важных органов и систем беременной (ЦНС, почек, печени и фетоплацентарного комплекса), а также возникновением полиорганной недостаточности [1, 2]. Это заболевание встречается у 6-8% беременных в развитых странах и превышает 20% в странах, которые развиваются [3]. При условии развития гестоза частота возникновения плацентарной дисфункции и задержки внутриутробного развития составляет 45%. Перинатальная заболеваемость при гестозе достигает 700‰, а смертность – от 24 до 180‰ [4]. Гестоз приводит к нарушениям адаптации новорожденных в неонатальном периоде и задержке психомоторного развития детей [5, 6]. В соответствии с современными представлениями, в период беременности важное значение имеет высвобождение оксида азота (NO), поскольку он играет роль антиагреганта в маточно-плацентарном кровотоке. Некоторые авторы, изучая активность синтеза NO в плацентах женщин при плацентарной дисфункции, гестозе и задержке внутриутробного развития, обнаружили снижение его уровня. NO является мощнейшим вазодилататором и антиоксидантом. Нарушение биосинтеза NO во время беременности относят к существенным факторам дисфункции эндотелия при гестозе [7].

Главными звеньями патогенеза гестоза являются: генерализованный спазм артерий, гиповолемия, нарушение реологических и коагуляционных свойств крови, эндотоксемия, гипоперфузия тканей, нарушение структурно-функциональных свойств клеточных мембран с изменением жизнедеятельности клеток, ишемические и некротические изменения в тканях жизненно-важных органов беременной с нарушением их функций [5, 8].

Для лечения гестоза сегодня используется целый ряд лекарственных препаратов. Фармакологическая «агрессия» в акушерской практике приводит к повышению частоты побочных эффектов как со стороны материнского организма, так и плода. Исходя из этого, обоснованным является применение лекарственных препаратов природного происхождения и эндогенных метаболитов, которые комплексно влияют на несколько звеньев патогенеза и оказывают минимальное побочное действие на организм плода. Исходя из вышесказанного, мы обратили свое внимание на эссенциальные фосфолипиды в липосомальной форме. Препараты в липосомальной форме способны поступать именно в орган-мишень, что снижает влияние на другие органы и системы. Одним из эффективнейших является яичный фосфатидилхолин в форме многослойных липосом. В ходе предыдущих исследований было установлено высокое фетопротекторное, гравидопротекторное, антиоксидантное действие липосомальных фосфолипидов на модели экспериментального гестоза (эндотелиальная дисфункция у крыс). Представляло интерес также изучить влияние липосомальных фосфолипидов на один из основных органов-мишеней при гестозе – почки, что и явилось задачей настоящего исследования.

Цель исследования: изучение нефропротекторного действия липосомальных фосфолипидов на модели эндотелиальной дисфункции (экспериментальный гестоз), вызванной ингибированием NO синтазы N ω -нитро-L-аргинином.

Материалы и методы

В эксперименте использовали беременных самок белых нелинейных крыс (массой 200-220 г), выращенных в виварии ЦНИЛ Национального фармацевтического университета. Все экспериментальные животные содержались в стандартных санитарных условиях. При отборе животных для эксперимента самок с установленным эстральным циклом в фазе эструс подсаживали к самцам из расчета 3 самки на самца. Дату первого дня гестации определяли по наличию сперматозоидов в мазках беременных самок [9].

Эндотелиальную дисфункцию вызывали подкожным введением беременным самкам водного раствора N ω -нитро-L-аргинина с 13-го по 19-й день беременности в дозе 50 мг/кг. Ингибирование NO синтазы N ω -нитро-L-аргинином в период гестации вызывает симптомы, которые напоминают преэклампсию: гипертензию, протеинурию и задержку внутриутробного развития плодов [10].

Для выполнения опыта использовали 4 группы животных (10 животных в группе): группа интактных животных, группа контрольной патологии (с 13-го по 19-й день гестации получала N ω -нитро-L-аргинин), группа животных, получавшая на фоне введения токсиканта липосомальную форму эссенциальных фосфолипидов внутривенно в разовой дозе 100 мг/кг с 11-го по 19-й день гестации однократно, группа референс-препарата – молсидомин («Сиднофарм») в дозе 0,46 мг/кг в аналогичном режиме.

В течение всего времени эксперимента животным измеряли артериальное давление с помощью тонометра LE 5001 (PANLAB, S.L. Energia, 112 08940 Cornell, Spain). Перед эвтаназией определяли уровень белка в моче (Albu Phan, PLIVA-Lachema Diagnostica s.r.o.).

Для морфологического исследования почек образцы тканей фиксировали в 10% растворе формалина, дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации, помещали в целлоидин-парафин. Срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Экспериментальные исследования выполнены в соответствии с «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Украина, 2001) [11], в соответствии с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985) [12].

Статистическую обработку проводили с помощью программы «Statistica-5.0» методами вариационной статистики с расчетом показателей: среднего значения, стандартной ошибки среднего, достоверности отличий между группами сравнения по параметрическому критерию Стьюдента (t) в случаях нормального распределения; отличия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Введение N ω -нитро-L-аргинина сопровождалось протеинурией (табл. 1) и повышением артериального давления (табл. 2). Результаты, представленные в таблицах, приведены в виде: $M \pm m$, где M – среднее, m – стандартная ошибка среднего.



Таблица 1

Присутствие белка в моче (г/л) беременных крыс на 20-е сутки гестации

Интактные животные, n=10	Контрольная патология, n=10	Липосомальные фосфолипиды, n=10	Молсидомин, n=10
0,03±0,03	0,41±0,1*	0,06±0,04**	0,18±0,05*

Примечание:

* - статистически значимые различия с группой интактных животных, $p \leq 0,05$;** - статистически значимые различия с животными группы контрольной патологии, $p \leq 0,05$;М - статистически значимые различия с группой животных, получавших на фоне патологии молсидомин, $p \leq 0,05$;

n - количество животных в группе.

Таблица 2

Динамика изменений систолического артериального (mm Hg) давления под влиянием липосомальной формы фосфолипидов и молсидомина на модели эндотелиальной дисфункции

Группа животных	Дни гестации							
	12-й	13-й	14-й	15-й	16-й	17-й	18-й	19-й
Интактные животные, n=10	118,4± 6,3	117,7± 7,3	117,1 ±9,7	120,1 ±10,8	116,4 ±10,3	117,5 ±11,6	115,1 ±10,1	112,3 ±9,7
Контрольная патология, n=10	119,2 ±2,5	167,0 ±25,7*	171,8 ±14,1*	188,7 ±23,4*	188,3 ±14,9*	182,7 ±22,2*	198,2 ±19,9*	199,8 ±20,6*
Липосо-мальные фосфолипиды, n=10	114,2± 6,3	132,9 ±10,7**	138,5 ±9,3**	127,6 ±10,9**	131,1 ±9,5**	130,5 ±7,6**	130,0 ±6,9**	127,7 ±4,3**
Молсидомин, n=10	119,4± 5,9	136,7 ± 6,1**	136,6 ±7,5**	141,5 ±3,6**	146,9 ±6,5**	146,6 ±4,5**	145,7 ±3,7**	146,4 ±4,8**

Примечание:

* - статистически значимые различия с группой интактных животных, $p \leq 0,05$;** - статистически значимые различия с животными группы контрольной патологии, $p \leq 0,05$;М - статистически значимые различия с группой животных, получавших на фоне патологии молсидомин, $p \leq 0,05$;

n - количество животных в группе.

Как видно из данных таблицы 1, у животных, которым вводили липосомальные фосфолипиды, произошло достоверное снижение показателя уровня протеинурии по отношению к группе животных контрольной патологии. Что касается препарата сравнения, то уровень белка в этой группе не имел статистически значимых различий в сравнении с контрольной патологией.

Введение эссенциальных фосфолипидов в липосомальной форме способствовало снижению артериального давления в этой группе животных, что статистически не отличалось от показателей референс-препарата (табл. 2).

Результаты изучения нефропротекторного действия были подтверждены морфологическими исследованиями (рис. 1).

В почках самок интактных крыс 20-х суток гестации гистоструктура системы канальцев была в пределах нормы. Почечные клубочки умеренно вариабельные по размеру. Рисунок капиллярных петель достаточно четкий. Капиллярные петли полнокровные, эритроциты в них занимали центральное место (рис. 1а). При воспроизведении реакции с шифф-йодной кислотой (ШИК-реакция) базальная мембрана гломерулярных капилляров тонкая, бледно-розового цвета, со слабой оптической плотностью; размер мезангиума обыкновенный (рис. 1 д).

У части самок группы контрольной патологии (до 50%) наблюдалось увеличение размера части почечных телец. Такие клубочки иногда занимали всю капсулу, в некоторых клубочках наблюдался митоз отдельных эндотелиальных клеток. У этих животных приблизительно у 1/3 всех клубочков наблюдали бескровность части клубочковых петель, иногда практически всех петель (рис. 1 б). Просвет капилляров в таких клубочках суженный, клетки эндотелия вариабельны по размеру, часть их отекая, базальная мембрана участками утолщена, расслоена, ее границы не четкие. Она более интенсивно окрашивалась ШИК-позитивно, оптически более плотная; мезангиальное пространство увеличено (рис. 1 е).

Введение липосомальных фосфолипидов препятствовало ишемизации клубочков. В отличие от группы контрольной патологии, у беременных самок 20-х суток гестации, которые получали эссенциальные фосфолипиды, наблюдалось небольшое количество почечных телец, в которых видна бескровность части капилляров. Размер почечных телец умеренный, размер капсулы нормальный, эндотелиальные клетки капилляров обычные (рис. 1 в). Базальные мембраны гломерулярных капилляров, как правило, достаточно тонкие, не расслоены, четкие. Мезангиальное пространство небольшое. Эндо-



телиальные клетки капилляров практически одинакового размера, не отекающие (рис. 1 ж).

После введения препарата сравнения молсидомина у отдельных самок наблюдали частичное обескровливание капиллярных петель в некоторых клубочках. В основной

массе почечных клубочков гломерулярная сетка равномерно полнокровная (рис. 1 г). Базальные мембраны капилляров достаточно четкие, в некоторых клубочках местами несколько распушены или «сближены», мезангиальное пространство обычное (рис. 1 з).

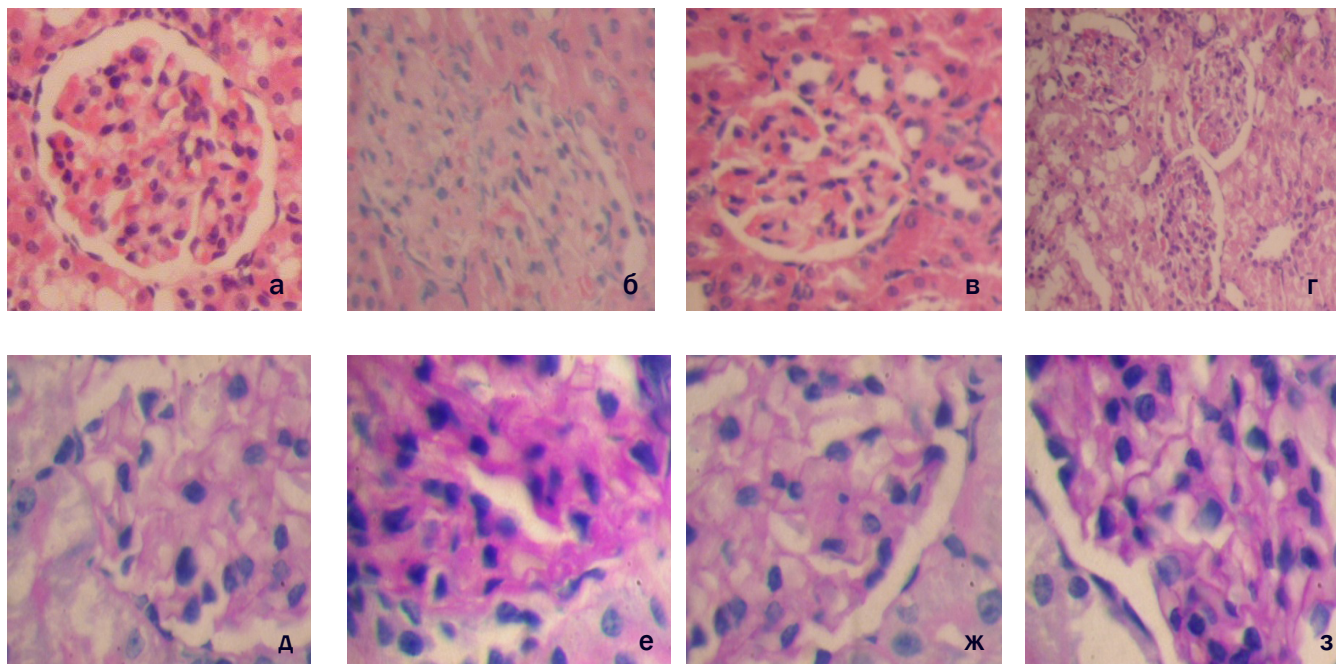


Рис. 1. Состояние почек беременных крыс на модели эндотелиальной дисфункции (экспериментального гестоза): а, д — интактной крысы; б, е — крысы группы контрольной патологии; в, ж — крысы группы, которая получала липосомальные фосфолипиды; г, з — крысы группы, которая получала референс-препарат молсидомин. Гематоксилин и эозин (а-г), ШИК-реакция (д-з). $\times 250, 400$.

Выводы

В ходе проведенных исследований установлено:

- введение липосомальных эссенциальных фосфолипидов на фоне эндотелиальной дисфункции (экспериментального гестоза) способствовало достоверному снижению артериального давления в среднем на 28,8% (при уровне значимости $p \leq 0,05$) в течение всего времени введения токсиканта, что статистически не имело отличий от

показателей в группе референс-препарата;

- по уровню снижения протеинурии эссенциальные фосфолипиды в липосомальной форме превосходили референс-препарат молсидомин;

- морфологическими исследованиями подтверждено наличие нефропротекторного действия липосомальных эссенциальных фосфолипидов, которое превышало действие референс-препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коханевич Е. В. Актуальные вопросы акушерства, гинекологии и репродуктологии / под ред. Е. В. Коханевич. – М.: Триада-Х, 2006. – 480 с.
2. Кулаков В. И. Рациональная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии : указания для практикующих врачей / под общ. ред. В. И. Кулакова, В. Н. Серова. – М.: Литера, 2005. – Т. 9. – 1152 с.
3. Мозговая Е. В. Эндотелиальная функция при гестозе. Патогенез, генетическая предрасположенность, диагностика и профилактика (методические рекомендации) / Е. В. Мозговая, О. В. Малышева, Т. Э. Иващенко и др. – СПб.: Издательство Н-Л, 2003. – 32 с.
4. Храмова А. С. Профилактика неблагоприятных исходов у беременных группы высокого риска развития гестоза и синдрома задержки роста плода / А. С. Храмова // Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – Т.3, № 4. – С. 46–49.
5. Кулаков В. И. Клинические рекомендации. Акушерство и гинекология / под ред. В. И. Кулакова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 512 с.
6. Храмова А. С. Профилактика неблагоприятных исходов у беременных группы высокого риска развития гестоза и синдрома задержки роста плода / А. С. Храмова // Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – Т.3, № 4. – С. 46–49.
7. Репина М. А. Преэклампсия и материнская смертность / М. А. Репина – СПб.: Изд. дом СПбМАПО, 2005. – 208 с.
8. Сидельникова В. М. Эндокринология беременности в норме и при патологии / В. М. Сидельникова – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 352 с.



9. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
10. Vanderlelie J. J. Chronic nitric oxide synthase inhibition in pregnant rats does not result in placental oxidative stress / J. J. Vanderlelie, A. V. Percins // Hypertens. Pregnancy. – 2006. – Vol. 25, № 2. – P. 103–114.
11. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. — Strasbourg: Council of Europe, 1986. — 53 p.
12. Общие этические принципы экспериментов на животных. // Первый национальный конгресс по биоэтике, 17-20 сентября 2001 г. : матер. конгрессу. Вестник НАНУ. – 2001. – № 9 – с. 20.

ПОСТУПИЛА 19.09.2013

УДК 616.34-007.43-031:616.26]-089-053.1/.2

И.И. Ловская, М.Г. Чепурной, Г.И. Чепурной, В.Б. Кацупеев, Б.Г.Розин

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ХИРУРГИЧЕСКОМУ ЛЕЧЕНИЮ ПРАВОСТОРОННИХ ВРОЖДЕННЫХ ДИАФРАГМАЛЬНЫХ ГРЫЖ

*Ростовский государственный медицинский университет,
кафедра детской хирургии и ортопедии*

Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. E-mail: chepur@rambler.ru

Цель: улучшить исходы хирургического лечения новорожденных с правосторонними врожденными диафрагмальными грыжами (ПВДГ).

Материал и методы. Анатомический эксперимент в виде наливок бариевой взвесью v. cava inf. с печеночными венами был проведен на 4 трупях детей: с ПВДГ (2) и без ПВДГ (2) – контроль. Осуществляли рентгеновазографическое сравнение. В клинической части работы сравнивались 2 группы больных: оперированные до 2008 г. (22 ребенка) с насильственным погружением печени под диафрагму и ушиванием дефекта над печенью и оперированные после 2008 г. (11 детей) с частичным ушиванием дефекта до печени в сочетании с пластикой диафрагмы синтетической сеткой. Производили клинико-рентгенологическое сравнение.

Результаты. Анатомический эксперимент показал, что печеночные вены у больных с ПВДГ располагаются выше на половину или все тело грудного позвонка по сравнению с контролем. У детей I группы летальные исходы отмечены у 9 больных (40,9%), во II группе летальных исходов не было.

Выводы. 1.ПВДГ следует рассматривать как внутригрудную эктопию печени. 2. У детей с этой патологией целесообразно осуществлять трансторакальный доступ при хирургическом лечении.

Ключевые слова: врожденная диафрагмальная грыжа, хирургическое лечение.

I.I. Lovskaya, M.G. Chepurnoy, G.I. Chepurnoy, V.B. Katsupееv, B.G. Rozin

AN ACTUAL METHODS OF RIGHT-SIDED CONGENITAL DIAPHRAGMATIC HERNIAS SURGICAL TREATMENT

Rostov State Medical University,

Department of pediatric surgery and orthopedics

29 Nakhichevansky st., Rostov-on-Don, 344022, Russia. E-mail: chepur@rambler.ru

Purpose: to improve the surgical treatment outcomes in children with right-sided congenital diaphragmatic hernias (RCDH).

Materials and methods. An anatomical experimental study included filing vena cava inferior and hepatic veins with barium suspension was carried out in 4 children's corps: with RCDH (2) and the control – without RCDH (2). An X-ray vasographic