УДК 615.322: 612.146.2

ПРОТИВООТЕЧНЫЙ ЭФФЕКТ КОМПОЗИЦИИ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА И АРАБИНОГАЛАКТАНА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Александр Юрьевич ШАМАНАЕВ, Иван Сергеевич ИВАНОВ, Анастасия Витальевна СИДЕХМЕНОВА, Марк Борисович ПЛОТНИКОВ

ФГБУ НИИ фармакологии имени Е.Д. Гольдберга СО РАМН
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

Исследовали противоотечную активность композиции дигидрокверцетина и арабиногалактана в условиях модели хронической венозной недостаточности, вызванной частичной окклюзией каудальной полой вены. Животным опытной группы внутрижелудочно вводили композицию дигидрокверцетина и арабиногалактана (50 и 250 мг/кг соответственно) один раз в сутки в течение двух недель. Противоотечный эффект композиции дигидрокверцетина и арабиногалактана оценивали онкометрически и морфологически. Микроциркуляцию в тканях голени измеряли методом лазерной допплеровской флоуметрии. Венозное давление в полой вене регистрировали прямым методом на аппарате для электрофизиологических исследований «Biopac». Показано развитие отека задних конечностей, венозной гипертензии и снижение уровня микроциркуляции в коже у крыс в условиях модели хронической венозной недостаточности. Установлено, что курсовое внутрижелудочное введение композиции дигидрокверцетина и арабиногалактана предотвращает увеличение объема задних конечностей и интерстициального пространства, снижает венозное давление и улучшает микроциркуляцию у крыс в условиях хронической венозной недостаточности.

Ключевые слова: хроническая венозная недостаточность, венозное давление, отек, микроциркуляция, дигидрокверцетин, арабиногалактан.

Несмотря на значительные успехи в фармакотерапии хронических заболеваний вен нижних конечностей, до настоящего времени остается важной проблема одного из самых распространенных симптомов – отечного процесса [1]. Важнейшим механизмом развития отека при хронической венозной недостаточности (ХВН) является венозная гипертензия, приводящая к нарушению функционирования вен, капилляров и лимфатических сосудов [12]. Медикаментозная терапия данного симптома ХВН направлена на улучшение лимфооттока, снижение капиллярной проницаемости, восстановление микроциркуляции, т.е. коррекции реабсорбции жидкости из тканей [1, 11].

В настоящее время одними из самых эффективных флебопротекторов считаются флавоноиды (диосмин, рутин) и их производные (рутозиды) [2, 13]. Одним из перспективных флебопротекторов является флавоноид дигидрокверцетин, который проявляет лимфокинетическую и капилляропротекторную активность [4, 6]. В эксперименте по исследованию тканевого кровотока показано, что при использовании дигидрокверцетина в композиции с арабиногалактаном повышается его способность усиливать микроциркуляцию [7].

В связи с этим целью данной работы явилось исследование противоотечной активности композиции дигидрокверцетина и арабиногалактана у крыс с хронической венозной недостаточностью.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 21 аутбредной крысе самце Вистар массой 300–350 г, полученных из вивария ФГБУ НИИ фармакологии имени Е.Д. Гольдберга СО РАМН. Животные содержались в пластиковых клетках в стандартных условиях со световым циклом 12:12 и свободным доступом к воде и пище. Исследования выпол-

Шаманаев А.Ю. *– аспирант лаборатории фармакологии кровообращения, e-mail: sham_man@mail.ru*
Иванов И.С. *– к.б.н., научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения, e-mail: ivanov.tomsk@gmail.com*
Сидехменова А.В. *– к.м.н., научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения, e-mail: sidehmenova@yandex.ru*
Плотников М.Б. *– д.б.н., проф., зав. лабораторией фармакологии кровообращения, e-mail: mbp2001@mail.ru*

нены в соответствии с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/EEC) и Хельсинкской декларации по защите позвоночных животных, используемых для лабораторных и иных целей.

ХВН моделировали путем ограничения кровотока в каудальной полой вене в течение двух недель [8]. В первый день эксперимента у животных под эфирным наркозом проводили лапаротомию, выделяли участок каудальной полой вены проксимальнее правой почечной вены и подводили под него лигатуру, после чего в бедренную вену вводили гепарин в дозе 250 ЕД/кг и осуществляли частичную окклюзию каудальной полой вены (на 2/3) при помощи иглы с диаметром сечения 0,8 мм, которую прикладывали к вене в месте лигирования. После перевязки сосуда частично восстанавливали просвет сосуда, извлекая иглу. У ложнооперированных (ЛО) животных полностью повторяли оперативное вмешательство, но без этапа окклюзии сосуда. Начиная со второго дня эксперимента и до конца второй недели животные ежедневно получали исследуемую субстанцию. Композицию дигидрокверцетина и арабиногалактана вводили внутрижелудочно в дозе 300 мг/кг (50 мг дигидрокверцетина и 250 мг арабиногалактана) в виде взвеси в воде очищенной. Животные контрольной и ЛО групп получали воду очищенную в эквиобъемном количестве. Последнее введение веществ осуществляли за час до измерения параметров.

На 14-е сутки у животных оценивали объем стопы задних конечностей онкометрическим методом [9], измеряли венозное давление и уровень микроциркуляции в поверхностных тканях голени. За день до измерения показателей задние конечности животных депилировали с внутренней стороны. Уровень микроциркуляции оценивали методом лазерной допплеровской флоуметрии с использованием аппаратного комплекса для электрофизиологических исследований Biopac (США), в качестве единицы измерения микроциркуляции использовали BPU (blood perfusion unit). Перед измерением венозного давления крыс наркотизировали диэтиловым эфиром, затем внутривенно вводили гепарин в дозе 250 ЕД/кг. Давление в каудальной полой вене измеряли прямым методом с помощью датчика давления TSD104A аппаратного комплекса Biopac. Доступ осуществлялся через бедренную вену.

После эвтаназии (передозировка эфирного наркоза) у животных забирали часть мышцы голени. Для гистологического исследования кусочки мышц фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, затем обезвоживали в серии спиртов восходящей концентрации, заливали в парафин и изготавливали поперечные срезы толщиной 5 мкм. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. На гистологических препаратах мышцы голени с помощью программы «Adobe Photoshop CS2» оценивали площадь интерстициального пространства по отношению к стандартной площади ткани (в %) в полях зрения при десятикратном увеличении.

Для оценки достоверности межгрупповых различий использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Результаты исследований представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего значения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У животных контрольной группы на 14-е сутки развивался отек задних конечностей, что выражалось в достоверном увеличении объема стоп на 9 % по сравнению с исходными значениями (табл. 1). Ограничение кровотока в каудальной полой вене приводило к повышению венозного давления в 2,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с ЛО животными (табл. 2). На фоне венозной гипертензии в группе контроля наблюдали снижение уров-

Таблица 1

Влияние курсового (14 сут) внутрижелудочного введения композиции дигидрокверцетина и арабиногалактана (50 и 250 мг/кг соответственно) на объем стопы задних конечностей у крыс с хронической венозной недостаточностью

Группа животных	Исходный объем, мл		Объем на 14-е сутки, мл	
	Левая стопа	Правая стопа	Левая стопа	Правая стопа
ЛО (n = 7)	2,01 ± 0,09	1,99 ± 0,11	2,00 ± 0,05	2,01 ± 0,05
Контроль (n = 7)	2,06 ± 0,04	2,06 ± 0,04	2,24 ± 0,05*#	2,25 ± 0,04*#
Дигидрокверцетин и арабиногалактан (n = 7)	2,01 ± 0,05	2,00 ± 0,05	2,02 ± 0,06+	2,01 ± 0,06+

Примечание. Здесь и в табл. 2 обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – группы ЛО, + – контроля, # – исходных значений.

Таблица 2

Влияние курсового (14 сут) внутрижелудочного введения композиции дигидрокверцетина и арабиногалактана (50 и 250 мг/кг соответственно) на венозное давление, микроциркуляцию и величину интерстициального пространства у крыс с хронической венозной недостаточностью

Группа животных	Венозное давление, мм рт. ст.	BPU, отн. ед.	Площадь интерстициального пространства по отношению к стандартной площади ткани, %
ЛО (n = 7)	4,52 ± 0,18	743 ± 65	32,9 ± 0,9
Контроль (n = 7)	9,74 ± 0,33*	502 ± 19*	41,1 ± 1,5*
Дигидрокверцетин и арабиногалактан (n = 7)	8,14 ± 0,32*+	592 ± 29*+	36,5 ± 0,6+

ня микроциркуляции в тканях голени на 32 % по сравнению с ЛО животными (см. табл. 2). При гистологическом исследовании выявлено увеличение интерстициального пространства на 25 % в контрольной группе (p < 0,05) (см. табл. 2, рисунок).

Таким образом, частичная окклюзия каудальной полой вены приводит к отеку конечности, развитию венозной гипертензии, снижению уровня микроциркуляции в коже, т.е. модель воспроизводит характерные признаки ХВН у людей [8]. Известно, что отек при ХВН обусловлен нарушениями венозного и лимфатического оттока на макрогемодинамическом уровне, которые приводят к дезорганизации регионарной системы микроциркуляции [5]. Длительное повышение давления в венах нижних конечностей приводит к их расширению, патологическому депонированию крови и, как следствие, усилению транскапиллярной фильтрации [3]. Со временем из-за возросшего объема межтканевой жидкости происходит перегрузка и декомпенсация лимфатической системы нижних конечностей и развитие стойких отеков [12].

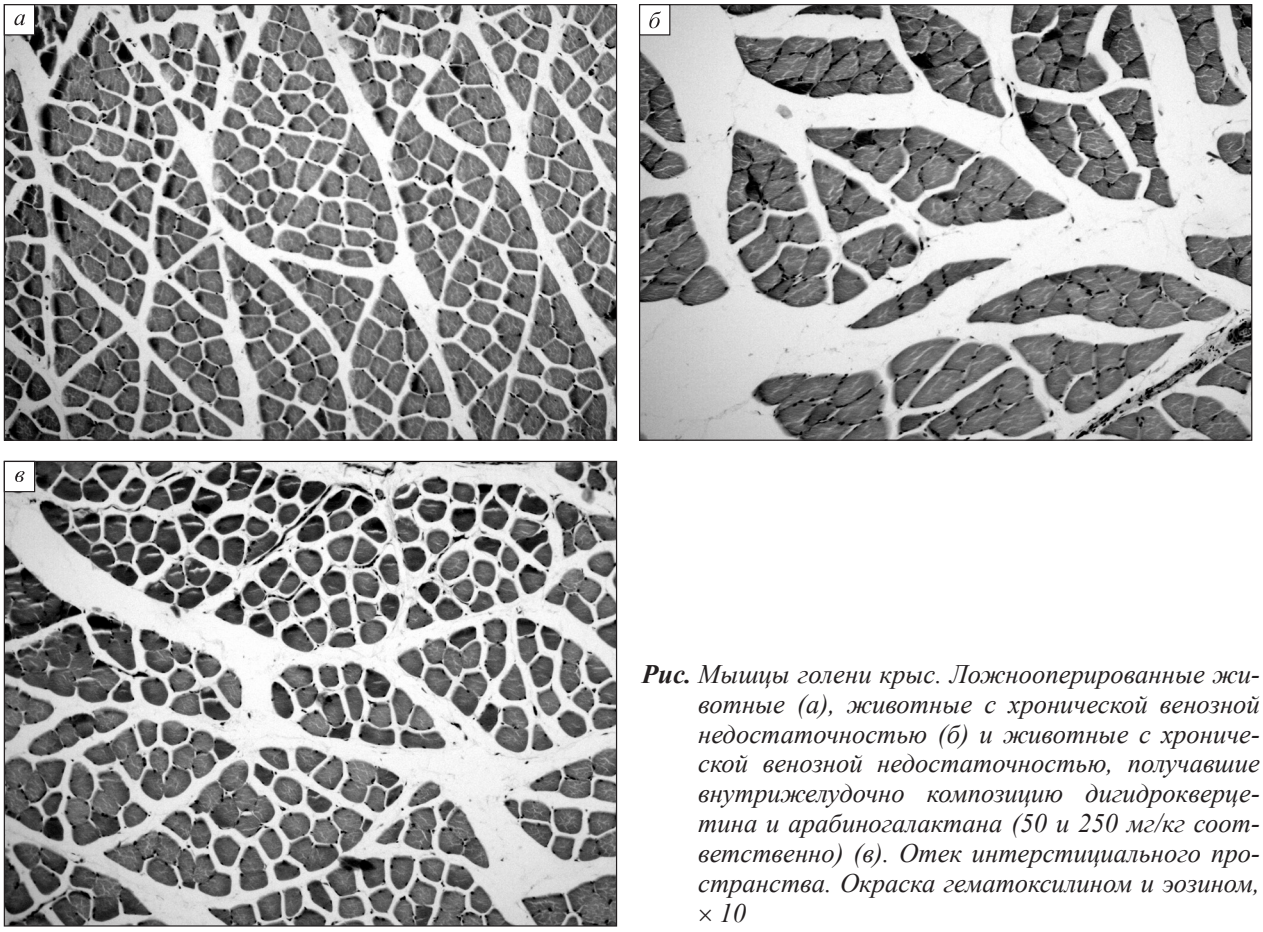

Рис. *Мышцы голени крыс. Ложнооперированные животные (а), животные с хронической венозной недостаточностью (б) и животные с хронической венозной недостаточностью, получавшие внутрижелудочно композицию дигидрокверцетина и арабиногалактана (50 и 250 мг/кг соответственно) (в). Отек интерстициального пространства. Окраска гематоксилином и эозином, × 10*

Введение композиции дигидрокверцетина и арабиногалактана в условиях модели ХВН препятствовало формированию отека конечности (см. табл. 1). Так, объем стопы задних конечностей у крыс, получавших композицию дигидрокверцетина и арабиногалактана, был достоверно ниже по сравнению со значениями в контроле и значимо не отличался от величин у ЛО животных. Венозное давление в этой группе было достоверно ниже на 16 % по сравнению с контрольной группой (см. табл. 2). Кроме того, наблюдалось улучшение микроциркуляции в поверхностных тканях голени у опытных животных (см. табл. 2). Уровень микроциркуляции в группе животных, получавших композицию дигидрокверцетина и арабиногалактана, был достоверно выше на 18 % по сравнению со значением у контрольных животных. По данным гистологического исследования, исследуемая композиция значимо ограничивала увеличение площади интерстициального пространства (см. табл. 2, рисунок).

Полученные данные свидетельствуют о перспективности разработки нового флеботропного лекарственного средства на основе композиции дигидрокверцетина и арабиногалактана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Композиция дигидрокверцетина и арабиногалактана при курсовом введении крысам с моделью ХВН в проведенном нами исследовании продемонстрировала способность предотвращать увеличение объема задних конечностей и площади интерстициального пространства, снижать венозное давление и увеличивать микроциркуляцию в коже.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Богачев В.Ю.* Современная фармакотерапия хронической венозной недостаточности нижних конечностей // Фармацевт. вестн. 2002. (12). 21–22.

2. *Богачев В.Ю.* Системная фармакотерапия хронической венозной недостаточности нижних конечностей. Современное состояние вопроса // Рус. мед. журн. 2004. (17). 994–999.

3. *Гороховская Г.Н., Юн В.Л.* Отеки при хронической венозной недостаточности нижних конечностей: клинические проявления, медикаментозное и хирургическое лечение // Терапевт. арх. 2013. 85. (4). 93–96.

4. *Иванов И.С., Сидехменова А.В., Анищенко А.М. и др.* Фармакологическая активность композиции на основе дигидрокверцетина и липоевой кислоты // Бюл. сибирской мед. 2011. (1). 43–48.

5. *Кириенко А.И., Григорян Р.А., Золотухин И.А.* Современные принципы лечения хронической венозной недостаточности // Consilium medicum. 2003. 5. (6). 361—366.

6. *Колхир В.К., Тюкавкина Н.А., Быков В.А. и др.* Диквертин – новое антиоксидантное и капилляропротекторное средство // Хим.-фарм. журн. 1995. (9). 61–64.

7. Пат. 2421215 РФ. Композиция с повышенной фармакологической активностью на основе дигидрокверцетина и растительных полисахаридов (варианты) / А.В. Душкин, Ю.А. Колесник, В.А. Бабкин и др.; опубл. 15.04.2010.

8. *Плотников М.Б., Иванов И.С., Сидехменова А.В. и др.* Моделирование хронической венозной недостаточности нижних конечностей // Биомедицина. 2013. (1). 55–66.

9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных веществ. Часть первая. М.: Гриф и К, 2013. 944 с.

10. *Савельев В.С.* Флебология. М., 2001. 660 с.

11. *Стойко Ю.М.* Флеботоники в терапии хронической венозной недостаточности нижних конечностей // Лечащий врач. 2005. (8). 46–50.

12. *Bergan J.J., Geert M.D., Schmid-Schönbein G.W. et al.* Chronic Venous Disease // N. Engl. J. Med. 2006. 355. (5). 488–498.

13. *Lyseng-Williamson K.A., Perry C.M.* Micronised purified flavonoid fraction: a review of its use in chronic venous insufficiency, venous ulcers and haemorrhoids // Drugs. 2003. 63. (1). 71–100.

ANTIEDEMATOUS EFFECT OF THE DIHYDROQUERCETIN AND ARABINOGALACTAN COMPOSITION IN CHRONIC VENOUS INSUFFICIENCY MODEL

Aleksandr Yur'yevich SHAMANAEV, Ivan Sergeevich IVANOV, Anastasiya Vital'yevna SIDEKHMENOVA, Mark Borisovich PLOTNIKOV

Institute of Pharmacology named after E.D. Gol´dberg of SB RAMS
634028, Tomsk, Lenina av., 3

Antiedematous activity of the dihydroquercetin and arabinogalactan composition in animal model of chronic venous insufficiency induced by partial occlusion of the caudal vena cava was investigated. Course (14 days) intragastric administration of composition based on dihydroquercetin and arabinogalactan (50+250 mg/kg, respectively) was given. Antiedematous effect of the dihydroquercetin and arabinogalactan composition was evaluated by oncometry and morphological methods. Microcirculation in the tissues of the leg was measured by laser Doppler flowmetry. Venous pressure in the vena cava was recorded by the direct method on the apparatus for electrophysiological studies «Biopac». Edema of lower limbs, venous hypertension and reduction in cutaneous microcirculation was found on rat´s model of chronic venous insufficiency. It was established that course intragastric administration of dihydroquercetin and arabinogalactan composition prevented increase in the hindlimb´s circumference and area of the interstitial space, reduced venous pressure and improved microcirculation in rats with chronic venous insufficiency.

Key words: chronic venous insufficiency, venous pressure, edema, microcirculation, dihydroquercetin, arabinogalactan.

Shamanaev A.Yu. *– postgraduate student of the laboratory for pharmacology circulation, e-mail: sham_man@mail.ru*
Ivanov I.S. *– candidate of biological sciences, researcher of the laboratory for pharmacology circulation, e-mail: ivanov.tomsk@gmail.com*
Sidekhmenova A.V. *– candidate of medical sciences, researcher of the laboratory for pharmacology circulation, e-mail: sidehmenova@yandex.ru*
Plotnikov M.B. *– doctor of biological sciences, professor, head of the laboratory for pharmacology circulation, e-mail: mbp2001@mail.ru*