

УДК 6.16.14:615.322

*Л.В. Яковлева¹, Ю.О. Томашевська², Л.В. Гладкова¹, Ю.Б. Лар'яновська¹***ДОСЛІДЖЕННЯ ВЕНОТОНІЗУЮЧОЇ ДІЇ КАПСУЛ «ФІТОВЕНОЛ» ПРИ ВЕНОЗНОМУ ЗАСТОЇ ХВОСТА У ЩУРІВ***Національний фармацевтичний університет¹,
м. Харків, Україна**Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова²,
м. Вінниця, Україна*e-mail: *cndlnfau@mail.ru*

Резюме: Метою роботи стало фармакологічне вивчення капсул «Фітовенол» на моделі венозного застою хвоста у щурів. Для моделювання венозного застою накладали лігатуру з навантаженням на основу хвоста. Модель дозволяє отримати порушення кровотоку внаслідок стази і запалення венозної стінки, що характерно для більшості тромботичних станів у людини. Для підтвердження розвитку патології та фармакотерапевтичної дії досліджуваних засобів були проведені морфологічні дослідження та клінічна оцінка отриманого набряку. «Фітовенол» проявляє виразну венопротекторну, капіляропротекторну, протинабрякову та антиексудативну дію. За виразністю ефекту капсули «Фітовенол» мають переваги перед таблетками «Ескувіт».

Ключові слова: «Фітовенол», «Ескувіт», щурі, запалення, набряк, венозний застій.

Вступ. Висока частота виникнення венозних захворювань, важкий хронічний перебіг, розвиток небезпечних ускладнень свідчать про актуальність та високу соціальну значущість фармакотерапії (ФТ) захворювань вен нижніх кінцівок, у т.ч. тромбофлебитів (Т). Розвиток запалення при Т супроводжується порушенням структури венозної стінки та підвищенням її проникності, що призводить до розвитку набряку, венозного застою, болювого синдрому, а у подальшому – до порушення системи згортання крові та тромбозу. Медикаментозне лікування венозних патологій повинне бути комплексним та спрямованим на купіювання запалення та локального тромбоутворення^{9,11}. Особливий інтерес викликають засоби на основі гіркокаштану звичайного, які призначають при наявності варикозного симптомокомплексу, виразок гомілки, Т, статичного набряку (під час стояння) та як протизапальні засоби^{2,3,6,12,13}.

Вченими ТОВ «Лабораторія «Ірис» та ЦНДЛ було розроблено засіб, капсули «Фітовенол», які містять подрібнену суміш лікарських рослин наступного складу в розрахунку на одну капсулу: плоди каштану звичайного – 0,09 г; листя гамамелісу віргінського – 0,075 г; плоди вівса посівного – 0,03 г; плоди софори японської – 0,03 г; трава золотушнику звичайного – 0,03 г; трава гадючника в'язолистого – 0,03 г; трава буркуну лікарського – 0,015 г. До складу біологічно ак-

тивних речовин рослинної суміші входять: есцин, рутин, кемпферол-3-софорозид, кверцетин-3-рутинозид, геністеїн-4-софорабіозид та інші флавоноїди, похідні кумарину й катехіну, похідні галової кислоти (у тому числі, гамамелітанін), похідні пурину, жироподібні речовини, білок, ефірні масла, сапоніни, алкалоїди, слизові, гіркі й дубильні речовини, смоли, органічні кислоти, вітаміни, крохмаль, мінеральні солі (фосфорні, кальцієві та інші)^{3,4}.

Враховуючи, що розвиток запалення при Т супроводжується порушенням структури венозної стінки та підвищенням її проникності, що призводить до розвитку набряку та венозного застою¹¹. У тварин наведена патологія відтворюється на моделі венозного застою хвоста у щурів. При цьому зберігається проходність артеріальних судин, але на 2/3 гальмується венозний відтік із хвоста. У результаті розвивається веностаз, що супроводжується трансудативним набряком⁷.

Метою дослідження стало вивчення впливу препарату, капсул «Фітовенол», на розвиток набряку та венозний застій в експерименті на тваринах.

Матеріали та методи дослідження. Патологію (венозний застій та набряк) у щурів викликали оклюзією хвоста. На основу хвоста на 3 год. накладали лігатуру з навантаженням у вигляді металевої гири 200 г⁷.

Експеримент проводили на статевозрілих щурах масою 180–200 г. Дослідження проводили у порівнянні з таблетками «Ескувіт» виробництва «Київмедпрепарат», Україна, до складу якого входить сухий екстракт плодів каштану кінського 0,04 г (у перерахунку на вміст есцину 50%)¹². Тварини були поділені на 4 групи по 6 тварин у кожній: 1 – негативний контроль; 2 – позитивний контроль (патологія); 3 – патологія + капсули «Фітовенол»; 4 – патологія + таблетки «Ескувіт». Капсули «Фітовенол» вводили в умовно-терапевтичній дозі 150 мг/кг (отриманій в попередніх дослідженнях за мембраностабілізуючою дією) та засіб порівняння «Ескувіт» у 50 мг/кг за таблетковою масою (у перерахунку з добової дози, рекомендованої для людини за Ю.Н. Риболовлевим¹⁰ вводили щурам профілактично протягом 30-ти днів до експерименту. Тварини контрольних груп протягом 30-ти днів отримували еквівалентну кількість питної води. Експеримент почали через 1 год. після останнього введення зразків. Розвиток набряку оцінювали за збільшенням об'єму хвоста, який вимірювали в динаміці упродовж 3-ох год. після накладання лігатури, та через 1, 2 і 24 год. після зняття лігатури. Об'єм хвоста вимірювали за допомогою механічного онкометра. Для інтегральної оцінки ефективності застосування зразків при цій патології розраховували показник їх антиексудативної активності (АА)⁷.

Розрахунок АА проводили за формулою:

$$AA = \frac{(\Delta V_k - \Delta V_d) \times 100\%}{\Delta V_k}, \text{ де}$$

Таблиця 1. Вплив капсул «Фітовенол» та таблеток «Ескувіт» на розвиток та перебіг набряку на тлі венозного застою хвоста у щурів, $\bar{X} \pm S^x$, n=6

Час, год	Позитивний контроль ΔV , у.о.(%)	«Фітовенол»	«Ескувіт»
		150 мг/кг ΔV , у.о.(%)	50 мг/кг ΔV , у.о.(%)
Під час накладання лігатури			
1	10,2±0,96 (18,8)	3,17±0,25 (5,26)*	4,0±0,7* (6,6)
2	14,67±0,30 (23,63)	5,67±0,29* (9,4)	6,0±0,9* (9,86)
3	22,33±0,77 (36,07)	7,0±0,8* (11,64)	8,0±0,8* (13,15)
Після зняття лігатури			
1	24,7±0,41 (39,85)	8,67±0,58* (14,4)	9,83±0,9 (16,15)
2	27,00±0,42 (43,6)	8,0±0,63* (13,3)	10,3±0,7*/** (17,0)
24	25,3±0,68 (41,0)	5,7±0,88* (9,4)	9,2±0,01*/** (15,1)

Примітки: * - відхилення статистично значуще щодо групи позитивного контролю, $p < 0,05$;

** - відхилення статистично значуще щодо групи ТЗ «Фітовенол» в дозі 150 мг/кг

Після зняття лігатури набряк у тварин групи позитивного контролю продовжував зростати: через 2 год. після зняття об'єм хвоста збільшився на 43%, а через 24 год. залишився збільшеним на 41%. Таким чином, лігатура, накладена на 3 год. на основу хвоста, призводить до розвитку набряку, що протя-

ΔV_k – приріст об'єму хвоста у тварин групи позитивного контролю, у.о;

ΔV_d – приріст об'єму хвоста у тварин, які отримували досліджуваний зразок, у.о.

Для підтвердження розвитку патології та фармакотерапевтичної дії досліджуваних засобів були проведені гістологічні дослідження морфологічного стану. Для морфологічного дослідження брали ділянку шкіри, що розташована нижче основи хвоста. Матеріал для дослідження фіксували в 10% розчині формаліну, заливали в целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном і еозином¹. Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом *Micros 400*. Мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснено цифровим фотоапаратом *Nicon Col Pix 4500*. Фотознімки обробляли на комп'ютері *Pentium 2,4GHz* за допомогою програми *Nicon View 5*.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою параметричного методу з використанням коефіцієнту Стюдента (t). При застосуванні метода математичної статистики був прийнятий рівень значущості $p < 0,05$ ⁸. Для проведення математичних розрахунків застосовували стандартний пакет статистичних програм *Statistica 6.0*.

Результати дослідження та їх обговорення. Клінічні спостереження підтвердили розвиток набряку. Оклюзія хвоста щурів упродовж 3-ох год. супроводжується збільшенням його об'єму: вже через 1 год. після накладання лігатури об'єм хвоста у тварин групи позитивного контролю зростає на 18,8%, через 3 год. – на 36% (табл. 1).

гом доби після її зняття не піддається інволюції.

Як показали результати досліджень капсули «Фітовенол» виявляють виражену протинабрякову активність (табл. 1). Досліджуваний засіб проявляє ефективність вже з першої години після накладання лігатури. За

3 год. з моменту накладання лігатури об'єм хвоста збільшився лише на 11,6%. Після зняття лігатури об'єм хвоста деякий час продовжував зростати подібно до нелікованих тварин, збільшившись на 13,3% на 2-гу годину після зняття лігатури, порівняно з величиною на початку експерименту. Однак, це зростання, на відміну від нелікованих тварин, вочевидь мало тимчасовий характер і згодом регресувало, бо через 24 год. після зняття лігатури об'єм хвоста у тварин був збільшеним лише на 9,4%. Таблетки «Ескувіт» виявили меншу ефективність. Об'єм хвоста у тварин цієї групи був вірогідно більшим ніж у групі, яка одержувала капсули «Фітовенол». Досліджуваний венотонізуючий засіб, капсули «Фітовенол», проявляє виразну протинабрякову активність, зменшуючи об'єм хвоста після оклюзії на 77%, та перевершує за ефективністю засіб порівняння «Ескувіт», активність якого складала 64% (рис. 1 та 2).

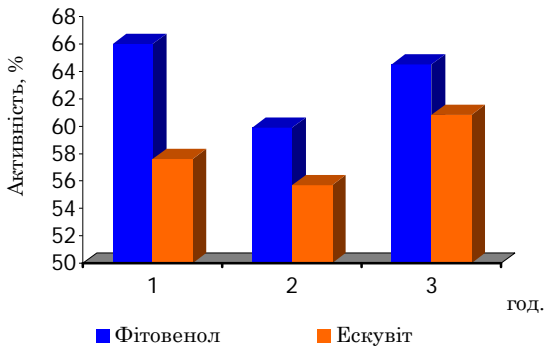


Рис. 1. Протинабрякова активність капсул «Фітовенол» та таблеток «Ескувіт» на моделі венозного застою у хвості щурів під час накладання лігатури



Рис. 3. Шкіра (а) та підшкірножирова клітковина (б) при венозному застої у хвості щурів (позитивний контроль): а – виразний набряк дерми навколо волосяних фолікулів (розширення кровоносних капілярів – товста стрілка, лімфатичних капілярів – стрілка, утворення пустот – подвійна стрілка, клітинна інфільтрація – овал); б – стаз у кровоносних капілярах, клітинна реакція.

Таким чином, унаслідок тривалого стиснення основи хвоста виникають складні реактивні процеси, що супроводжуються розвитком запалення та набряку. Мікроскопічна картина цього патологічного стану відображає різні процеси: реакцію судинно-еміграційного характеру, порушення венозного від-

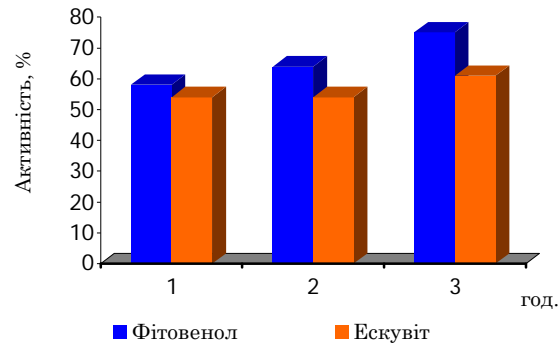


Рис. 2. Протинабрякова активність капсул «Фітовенол» та таблеток «Ескувіт» на моделі венозного застою у хвості щурів після зняття лігатури

Морфологічне дослідження стану ділянки шкіри хвоста щурів підтверджує фармакотерапевтичну ефективність капсул «Фітовенол». Через 24 год. після початку тривалого стиснення основи хвоста у щурів групи позитивного контролю у дермі, в місцях залягання волосяних фолікулів, виявлено дуже виразний набряк з утворенням щілин та пустот. Кровоносні та лімфатичні капіляри поширені. У окремих щурів навколо фолікулів видно окремі ділянки клітинної інфільтрації. Колагенові волокна набрякли. Помітно збільшений об'єм підшкірножирової клітковини. Судини підшкірножирової клітковини виразно поширені, повнокровні, часто в стані стазу. Лімфатичні судини поширені. Близько кровоносних судин видно скупчення переважно еозинофілів та плазматичних клітин (рис. 3 а-б).

току, порушення стану лімфатичної мережі, яка, як відомо, виконує у шкірі дренажну функцію^{1,5}.

Профілактичне введення щурам капсул «Фітовенол» протягом 30 діб у дозі 150 мг/кг сприяє попередженню розвитку патології. У підшкірножировій клітковині значно зниже-

на кількість еозинофілів та плазматичних клітин, майже повністю відновлюються по-

рушення капілярної системи та лімфатичної мережі (рис. 3 в-г).

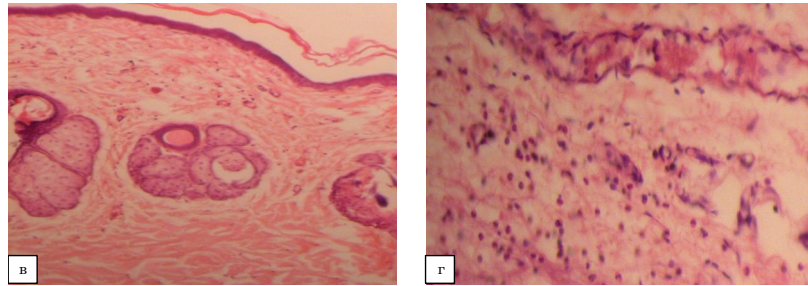


Рис. 3. Шкіра (в) та підшкірножирова клітковина (г) хвоста щура, якому вводили «Фітовенол» в – відновлення стану ділянок дерми навколо волосяних фолікулів; г – помірна клітинна насиченість та незначне розширення кровоносного капіляру.

Тобто, капсули «Фітовенол» виявляють протективну дію на стан судин, що запобігає вираженню запалення, венозного застою, порушенню дренажної функції у шкірі хвоста щурів та зменшенню набряку.

Аналогічне за схемою введення таблеток «Ескувіт» також покращує стан тканин шкі-

ри та підшкірножирової клітковини хвоста щурів. Проте, морфологічні дослідження (рис. 3 д-е) виявляють ділянки хвоста щурів цієї експериментальної групи з клітинною насиченістю та розширенням кровоносних капілярів.

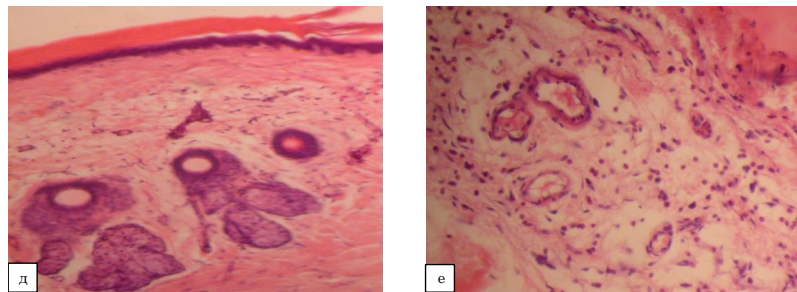


Рис. 3. Шкіра: морфоструктура (д) та підшкірножирова клітковина (е) хвоста щура, якому вводили «Ескувіт»: д – стан ділянок дерми навколо волосяних фолікулів наближений до негативного контролю; е – помірна клітинна насиченість та розширення кровоносних капілярів.

Мікроскопічна картина підтверджує результати клінічних спостережень та вказує на те, що за виразністю ефекту капсули «Фітовенол» мають переваги перед таблетками «Ескувіт».

Таким чином, на моделі венозного застою хвоста у щурів встановлено, що капсули «Фітовенол» чинять позитивний вплив на всі клінічні прояви патології – запалення та набряк.

Отримані результати засвідчують значну перевагу активності капсул «Фітовенол» над таблетками «Ескувіт».

Пrawdopodobно більш виражена активність капсул «Фітовенол» пов'язана з сумарною дією біологічно активних речовин (БАР) лікарських рослин, що підсилюють фармакологічну активність насіння гіркокаштану звичайного. Найбільш біологічно активною речовиною гіркокаштану звичайного є есцин⁶. Найважливішими фармакологічними ефек-

тами есцину при хронічній венозній недостатності (ХВН) є його антитромботична, протизапальна та вентонізуюча дії^{6,12}. До складу капсул «Фітовенол» входять рослини, БАР яких посилюють фармакологічну активність есцину. З метою покращення кровообігу у капілярах та попередження тромбозів до вмісту капсул «Фітовенол» включені рослини, що знижують згортальну активність крові. Це рослини, які містять кумарини: гіркокаштан звичайний та буркун лікарський. Дослідження останніх років свідчать про те, що кумарини збуджують спонтанні рухи лімфатичних судин, і це сприяє поступовому зменшенню набряків. У разі тромбозу та Т наявні в рослинах кумарини зменшують в'язкість крові й уповільнюють її зсідання та діють фібринолітично. Крім того, вони стають своєрідними підсилювачами дії основних біологічно активних сполук, зокрема флавоноїдів^{3,4}. Ще одна група рослин, яка попереджає

тромбоз вен та розріджує кров, утримує саліцилати. Антитромботичним представником саліцилатів є аспірин. Саліцилати входять до складу гадючника в'язолистого у вигляді саліцилової кислоти та метилово-саліцилової ефірної олії. Венотонічну та протизапальну дію посилюють фенольні речовини з антиоксидантною Р-вітамінною активністю (флавоноїди) та дубільні речовини гамамелісу вергінського, гадючника в'язолистого, трави золотушника звичайного, плодів софори японської, плодів вівса посівного. Звісно, що комплекс біофлавоноїдів, які утримують рослини капсул «Фітовенол» (кверцетин, кемпферол тощо) проявляють антиоксидантні властивості; зміцнюють стінки капілярів, нормалізують їх проникність^{3,4}. Зокрема треба зазначити, що рослини фітокомплексу утримують

аскорбінову кислоту (гіркокаштан звичайний, буркун лікарський, золотушник звичайний, гадючник в'язолистий). Аскорбінова кислота та речовини з Р-вітамінною активністю супроводжують і взаємно захищають один одного від переокиснення в метаболічних процесах як у рослинах, так і в людському організмі, виявляють синергізм дії, їх штучне роз'єднання під час виготовлення ліків призводить до значної втрати активності. Досліджений засіб «Фітовенол» містить нативний комплекс цих сполук, що також пояснює його виражену фармакологічну активність при дослідженій патології¹. Екстракт гіркокаштана звичайного, як монокомпонент у складі таблеток «Ескувіт» не забезпечує такої вираженої венотонізуючої дії.

Висновки:

1. При моделюванні трансудативного набряку, пов'язаного з венозним застоєм у хвості щурів у власне шкірі та підшкірній жировій клітковині виникають складні реактивні процеси, які характеризуються виразною реакцією судинно-еміграційного характеру, порушенням венозного відтоку, порушенням стану лімфатичної мережі. Все це призводить до розвитку та значного набряку тканин хвоста.
2. Профілактичне введення капсул «Фітовенол» та таблеток «Ескувіт» запобігає розвитку запалення та набряку, що в достатньо помітній мірі попереджує морфологічні прояви порушень венозного відтоку та ознак лімфостазу в шкірі та підшкірножировій клітковині хвоста щурів. Унаслідок цього зменшена або відсутня і

судинно-еміграційна реакція у найбільш проблемних ділянках дерми та у підшкірножировій клітковині. Все це підтверджує наявність у засобі «Фітовенол» протективної дії на стан судинних стінок, у т.ч. і венозних. За судинопротективною дією капсули «Фітовенол» мають переваги перед таблетками «Ескувіт».

3. Одержані результати клінічних та морфологічних досліджень впливу капсул «Фітовенол» у дозі 150 мг/кг при профілактичному застосуванні протягом 30 діб на перебіг трансудативного набряку, викликаного венозним застоєм у хвості щурів, свідчать про виражену венопротекторну, капіляропротекторну, протинабрякову та антиексудативну дію.

Література:

1. Гржебин З.Н. Основы гистопатологии кожи / З.Н. Гржебин, Г.С. Цераидис. – М.: Медгиз. –1960. – 360с.
2. Золотухин И.С. Применение эскузана для лечения и профилактики варикозной болезни и ее осложнений в акушерстве / И.С. Золотухин, И.А. Омельченко, М.А. Шемякова // Укр. мед. часопис. – 2000. – №5. – С. 57–61.
3. Кобзар А.Я. Фармакогнозія в медицині. Навчальний посібник / А.Я. Кобзар. – К.: Медицина, 2007. – 544 с.
4. Ковальов В.М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин / В.М. Ковальов, О.І. Павлій, Т.І. Ісакова; За ред. проф. В.М.Ковальова. – Х.: Прапор, 2000.–704 с.
5. Кожа (строение, общая патология и терапия) / Под ред. А.М.Чернуха, Е.И.Фролова. – М.: Медицина. – 1982. – 336с.
6. Куцик Р.В. Каштан конский / Р.В. Куцик, Б.М. Зук, В.В. Дьячок // Провизор. – 2002. – №4. – С.28–33.
7. Лакіза Т.Ю. Вивчення специфічних властивостей препарату Венотон / Т.Ю. Лакіза, З.П. Омеляненко, Л.А. Могирьова // Фармакологічний вісник. – 2000. – №6. – С. 31–33.
8. Лапач С.Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич.– 2001.–320 с.
9. Мишалов В.Г. Тромбоз вен нижних конечностей лечение и профилактика / В.Г. Мишалов, А.И. Осадий, В.М. Селюк // Хірургія України. – 2002. – №2. – С. 92–94.
10. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247. – №6. – С. 1513–1516.
11. Савельев В.С. Флебология / В.С. Савельев. – М.: Медицина. – 2001. – 662 с.
12. Харкевич Д.А. Венотропные (флеботропные) средства / Д.А. Харкевич // Эксп. и клин. фармакология. – 2004. – Т.67, №1. – С. 69–77.

13. Цубанова Н.А. Експериментальне вивчення нового, комплексного, венотонічного препарату на основі рослинних волокон: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Н.А. Цубанова. – Х., 2004. – 20 с.
14. Яковлева Л.В. Виявлення закономірностей залежності фармакологічної активності препарату капсули «Венотон» від спектру хімічних речовин обраних рослин за допомогою статистичних методів / Л.В. Яковлева, Ю.Б. Лар'яновська, Л.В. Гладкова // Фітотерапія. Часопис. – 2009. – №3. – С. 30–35
15. Яковлева Л.В. Дослідження мембраностабілізуючої дії капсул «Фітовенол» на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів / Л.В. Яковлева, Л.В. Гладкова, Ю.О. Томашевська // «Людина та ліки України»: тези доповідей 4-ого Національного конгресу 23–25 березня 2011. – Київ, 2011. – С. 134–135.
16. Anderson F.A. Risk factors for venous thromboembolism / F.A. Anderson, F.A. Spencer // Circulation. – 2003. – № 107. – P. 19–116.
17. Blann A.D. Venous thromboembolism / A.D. Blann, Y.-H. Lip. Gregory // BMJ. – 2006. – № 332. – P. 215–219.

УДК 6.16.14:615.322

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЕНОТОНИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ КАПСУЛ «ФИТОВЕНОЛ» ПРИ ВЕНОЗНОМ ЗАСТОЕ ХВОСТА У КРЫС

Л.В. Яковлева¹, Ю.О.Томашевская², Л.В. Гладкова¹, Ю.Б. Ларьяновская¹

Национальный фармацевтический университет¹, г. Харьков, Украина

Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова², г. Винница, Украина

Резюме: Целью данной работы стало фармакологическое изучение капсул «Фитовенол» на модели венозного застоя хвоста у крыс. Для моделирования венозного застоя накладывали лигатуру с нагрузкой на основу хвоста. Модель разрешает получить нарушение кровотока вследствие стаза и воспаления венозной стенки, которое характерно для большинства тромботических состояний у человека. Для подтверждения развития патологии и фармакотерапевтического действия исследуемых средств были проведены морфологические исследования и клиническая оценка полученного отека. «Фитовенол» проявляет выраженное венопротекторное, капилляропротекторное, противовоспалительное и антиэкзудативное действие. За выраженностью эффекта капсулы «Фитовенол» превосходят таблетки «Ескувит».

Ключевые слова: «Фитовенол», «Ескувит», крысы, воспаление, отек, венозный застой.

UDC 6.16.14:615.322

STUDY OF VENOTONIC EFFECT OF PHYTOVENOL CAPSULES IN TAIL VENOUS HYPEREMIA OF RATS

L. V. Yakovleva¹, Y. O. Tomashevskaya², L. V. Gladkova¹, Y. B. Laryanovska¹

National University of Pharmacy¹, Kharkiv, Ukraine

M. I. Pyrogov Vinnytsya National Medical University², Vinnytsya, Ukraine

Summary: The object of this work was to study *Phytovenol* capsules on model of venous engorgement of rats' tail. Venous engorgement was modeling by applying ligature with setting load on tails basis. The model results in blood circulation disorder caused by stasis and venous wall inflammation relevant to majority of thrombotic condition in human. To confirm pathology development and pharmacotherapeutic effect of investigational products morphologic examinations and clinical evaluation of received edema were performed. *Phytovenol* reveals significant antiedematous and anti-exudative, veins and capillaries protecting effect. In significance of effect the *Phytovenol* capsules have the superiority over *Eskuvit* tablets.

Keywords: *Phytovenol*, *Eskuvit*, rats, inflammation, edema, venous engorgement (stasis).

Надійшла до редакції 27.03.2012 р.