

Цулун А.В., Деримедведь Л.В., Зеленин Ю.В. *Исследование острой токсичности комбинированных мазей природного происхождения.*

Проведено исследование острой токсичности на крысах новых мазей природного происхождения: «СКД» (содержит экстракт солодки, коэнзим Q10, дигидрокверцетин) и «Дерматроп» (содержит календулу и ромашку), которые были разработаны в НФаУ. Установлено, что при наружном, пероральном и ректальном применении в максимальных дозах мазей «СКД» и «Дерматроп» отсутствовали какие-либо негативные проявления их токсического и раздражающего действия. По классификации К.К. Сидорова мазь «СКД» и мазь «Дерматроп» относятся к VI классу токсичности – «относительно безвредные» препараты. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейших углубленных исследований мазей «СКД» и «Дерматроп» в связи с их безвредностью и отсутствием местнораздражающего и гематотоксического действия.

Ключевые слова: острая токсичность, мазь, дерматотоксичность, крысы.

Summary

Tsulun O.V., Derymedvid L.V., Zelenin Y.V. *Acute toxicity study of natural origin combined.*

The aim of the study was to investigate the acute toxicity of new natural origin ointments "LCD" (contains licorice extract, coenzyme Q10, Dihydroquercetin) and «Dermatrop» (contains calendula and chamomile), that were created at the NUPh. After cutaneous, oral and rectal administration of ointments "LCD" and "Dermatrop" at maximum dose there were no signs of their toxic or irritative effect. Ointments "LCD" and "Dermatrop" according to the classification of Sidorov K.K. belong to toxicity class VI – "relatively safe" drugs. Received data suggest expediency of further advanced study of ointments LCD and "Dermatrop" due to their safety. Therefore, received data suggest expediency of further advanced study of ointments "LCD" and "Dermatrop" due to their safety and absence of local irritative and hematotoxic effects.

Key words: acute toxicity, ointment, dermatotoxicity, rats.

Рецензент: д.мед.н., проф. С.Ю. Штриголь

ПРИМЕНЕНИЕ ФЛАВОНОИДА - КВЕРЦЕТИНА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ

Н.А. Ярошева

*ГУ «Крымский государственный медицинский университет
имени С.И. Георгиевского» (Симферополь)*

Введение

Диабетическая ретинопатия (ДР), как осложнение сахарного диабета (СД), является одной из наиболее частых причин значительной потери зрения и занимает второе место среди причин слепоты в Украине [2]. Современное патогенетическое лечение больных ДР предусматривает, в первую очередь лазер-коагуляцию сетчатки (ЛКС), но в то же время доказана и высокая эффективность консервативной терапии, которая может быть использована как до, так и после ЛКС, особенно для стабилизации процессов пролиферации и предотвращения прогрессирования заболевания. Консервативное лечение ДР включает комбинацию ангио- и ретинопротекторов, антиоксидантов, гемостатиков, витаминов и тканевых препаратов [1, 3, 9, 10, 11]. В результате исследований было установлено, что существенным механизмом прогрессирования ДР является гипергликемия - и инсулинзависимый лейкоцито (лимфоцито) - опосредованный механизм формирования цитокинового дисбаланса. У больных с ДР выявленное нарастание синтеза мононуклеарными лейкоцитами провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α , по мере нарастания степени тяжести ангиопатии, может быть расценено как важная патогенетическая «составляющая» прогрессирования заболевания [6,10].

Флавоноиды (кверцетин), относятся к нетоксичным полифенольным соединениям – способным обрывать цепные свободно-радикальные реакции, изменять активность различных ферментов; прямо и опосредованно (через антиоксидантный эффект) модулировать цитокиновый потенциал и др. [5, 8, 10, 12, 13]. В небольшом ряду водорастворимых форм кверцетина особое место занимает липофлавон, включенный в уникальную систему доставки – липосому [15]. Указанная лекарственная форма позволяет добиться активной пе-

нетрации препарата в патологический очаг благодаря высокой биодоступности липосомальной формы доставки; синергизма эффектов кверцетина и липосомальной формы фосфатидилхолина, что сопровождается достоверным усилением антиоксидантного, цитопротекторного и эндотелийпротекторного эффекта [4]. Влияние препарата группы флавоноидов (кверцетина) на биологические эффекты цитокинов было доказано в экспериментах *in vitro* [5, 6]. Доказано, что действие кверцетина связано не только за счет антиоксидантного эффекта, но и за счет резкого торможения деградации мембранных фосфолипидов и уменьшения накопления свободных жирных кислот. При этом кверцетин способен обрывать свободнорадикальные реакции непосредственно в сосудистой стенке [14].

Установлено в эксперименте *in vitro*, что при ДР существует статистически достоверное влияние липофлавона на функциональную активность моноклеарных клеток: при культивировании клеток в присутствии липофлавона уровень цитокинов IL-1 β и TNF- α в культуральной среде снижается, что позволяет рекомендовать его для лечения ДР [6, 10].

Цель исследования: определить эффективность флавоноида – кверцетина в лечении больных диабетической ретинопатией.

Материалы и методы исследования

Обследовано 134 больных (268 глаз) с ДР, согласно классификации ETDRS (1991) разделенных на группы исследования: 1-я группа – 39 больных (78 глаз) непролиферативной диабетической ретинопатией (НДР), получавшие только комплексную терапию и служили контролем ко 2-й группе; 2-я группа – 53 больных (106 глаз) с непролиферативной ретинопатией (НДР), 3-я группа – 42 больных (84 глаза) с пролиферативной ретинопатией (ПРП). Больные 2-й и 3-й групп получали в комплексном лечении ДР инстилляции кверцетина (липофлавонон) по 2 кап. 6 раз в день в течение 1-го месяца, а так же внутривенный курс инъекций кверцетина (липофлавонон) по 2 флакона 1 раз в сутки внутривенно № 3 (производства ЗАО «БИ-ОЛЕК»). Получен патент на полезную модель «Спосіб лікування діабетичної ретинопатії» №36203. Средний возраст больных составил 39.7 \pm 8.2 лет, мужчин и женщин было поровну.

Проводили общепринятые офтальмологические исследования. Комплексная терапия включала таблетированные формы препаратов и инъекции (парабульбарно, внутривенно и внутримышечно): эмоксипина, дицинона, милдроната, ФИБСа, вит В6, вит В1 и др.

В исследовании участвовали больные без сопутствующих глазных заболеваний. По возрасту, полу, клиническим формам ДР группы исследования были идентичными. Все больные в результате лечения отмечали улучшение самочувствия, хорошую переносимость препарата, аллергических реакций не наблюдалось.

Полученные результаты и их обсуждение

У всех пациентов, при клиническом исследовании, были выявлены микроангиопатии, что включало нарушение калибра сосудов, неравномерность их, микроаневризмы и четкообразные микрогеморрагии по ходу сосудов. У больных с непролиферативной ДР наличие в сетчатке очагов твердого и мягкого экссудата, микроаневризм и четкообразных микрогеморрагий по периферии и в центре, наличие признаков макулярного отека. У больных с пролиферативной ДР – наличие неоваскулярных мембран, ретинальных кровоизлияний, что было подтверждено с помощью ФАГ и ОСТ.

Динамика остроты зрения у исследуемых больных представлена в таблице 1.

Таблица 1

Динамика остроты зрения у больных с ДР разными видами терапии, абс. (%)

Острота зрения	1 группа НДР традиц. терапия n = 39 (78 глаз) абс. (%)		2 группа НДР с кверцетином n = 53 (106 глаз) абс. (%)		3 группа ПДР с кверцетином n = 42 (84 глаза) абс. (%)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
0,01–0,1	2 (2,6%)	1 (1,3%)	3 (2,8%)	1 (1%) p<0,01	80 (95,2%)	68 (80,9%) p1<0,01 p2<0,001
0,2–0,5	56 (71,8%)	45 (57,7%)	89 (84%)	67 (63,2%) p<0,01	4 (4,8%)	14 (16,7%) p<0,05 p1<0,001 p2<0,001
0,6–1,0	20(25,6%)	32(41%)	14(13,2%)	38(35,8%) p<0,001	–	2(2,4%) p1<0,001 p2<0,001

Примечание: P – достоверность различия показателя до и после лечения в группе; p1 – достоверность различия показателя между 1 и 3 группой, p2 – достоверность различия показателя между 2 и 3 группой.

Как видно из табл.1, до лечения в 1-ой группе (группа контроля), получавших только традиционную терапию, острота зрения в пределах 0.01 – 0.1 была из 78 глаз на 2 (2,6%), 0.2 – 0.5 – на 56 глазах (71,8%), 0.6 – 1.0 – на 20 глазах (25,6%). После лечения зрение в указанных пределах в этой группе составляло соответственно на 1 (1,3%), на 45 (57,7%) и на 32 глазах (41%). Во 2-ой группе, получавших кверцетин на фоне традиционного лечения, из 106 глаз с НДР острота зрения 0.01 – 0.1 была на 3 (2,8%), 0.2 – 0.5 – на 89 (84%) и 0.6 – 1.0 – на 14 глазах (13,2%). В этой же группе после лечения острота зрения 0.01 – 0.1 отмечена на 1 (1%), 0.2 – 0.5 – на 67 глазах (63,2%) и 0.6 – 1.0 – на 38 глазах (35,8%). В 3-ей группе больных с ПДР, получавших кверцетин на фоне традиционного лечения, острота зрения из 84 глаз до лечения составляла 0.01 – 0.1 на 80 глазах (95,2%), 0.2 – 0.5 – на 4 глазах (4,8%). Более высокой остроты зрения в этой группе больных не отмечено. После лечения в этой группе больных из 84 глаз на 68 (80,9%) отмечено зрение 0.01 – 0.1, на 14 (16,7%) – 0.2 – 0.5 и на 2-х глазах (2,4%) оно было равно 0.6 – 1.0.

Динамика основных клинических симптомов под влиянием лечения у исследуемых больных с ДР представлено в табл. 2.

Таблица 2

**Динамика основных клинических симптомов
под влиянием лечения у исследуемых больных с ДР
при лечении разными видами терапии**

Симптомы	1 группа (контроль) n = 39 (78глаз)	2 группа n = 53 (106 глаз)	3 группа n = 42 (84 глаза)
	после лечения	после лечения	после лечения
Нормализация калибра микрососудов (дни)	13,6±1,4	9,3±1,6 p<0,05	11,4±1,4 p ₁ <0,05
Уменьшение (рассасывание) микродгеморрагий (дни)	16,1± 1,3 -	10,5±1,7 p<0,05	13,6±1,9 p ₁ <0,05
Уменьшение (исчезновение) макулярного отека (дни)	17,1±2,7 -	12,8± 1,6 p<0,05	15,3± 1,5 p ₁ <0,05

Примечание: p – достоверность различия показателя между 1 и 2 группами, p₁ – достоверность различия показателя между 2-й группой и 3-й группами.

У больных с НДР и с ПДР наблюдаются характерные клинические симптомы заболевания (табл.2), которые в зависимости от стадии ДР

и вида терапии, в разные сроки, находят свое разрешение: нормализация калибра микрососудов при традиционной терапии наступает на 13 день, а при применении кверцетина на 9-й день при НДР и на 11-й день при ПДР, что достоверно быстрее. Уменьшение микрогеморрагий, а в некоторых случаях и их рассасывание, наблюдалось при применении кверцетина в комплексной терапии на 10-й день при НДР и на 13-й день при ПДР, что также достоверно быстрее, чем при традиционной терапии (16-й день). Уменьшение, иногда исчезновение, макулярного отека или пастозности при применении рекомендуемой нами терапии наблюдали на 12-й и 15-й дни при НДР и ПДР соответственно, что достоверно быстрее, чем в группе контроля (на 17-й день) при лечении традиционной терапией.

Динамика уровня провоспалительных цитокинов IL-1β, TNF-α под влиянием курса комплексной терапии с применением кверцетина у больных с НДР представлены в табл.3.

Таблица 3

**Динамика уровня IL-1β, TNF-α в сыворотке крови под влиянием
проводимого лечения у больных 1-й и 2-й групп с НДР, нг/мл**

Группы исследования	Этап исследования	Стат. показ.	IL-1β (здоровые лица 33,81±1,39)	TNF-α (здоровые лица 13,35±0,92)
1-я группа (традиционная терапия)	До лечения	M ± m n p P ₁	47,67 ±1,92 42 - -	17,65 ± 0,54 42 - -
	После лечения	M ± m n p P ₁	44,43 ± 1,85 34 < 0,5 -	16,99 ± 0,25 34 < 0,5 -
2-я группа (кверцетин)	До лечения	M ± m n p P ₁	49,84 ± 1,83 28 - < 0,5	19,02 ± 0,79 28 - < 0,2
	После лечения	M ± m n p P ₁	38,06 ± 1,12 26 < 0,001 < 0,01	14,83 ± 0,80 26 < 0,001 < 0,02

Примечание: p – достоверность различий в сравнении с соответствующим показателем до лечения у больных той же группы, p₁ – достоверность различий, в сравнении с соответствующим показателем у больных 1-й группы на соответствующем этапе исследования.

Как видно из табл.3, при поступлении в стационар уровень IL-1 β в системном кровотоке у больных 1-й и 2-й групп существенно не отличается. Установлено, что под влиянием традиционной комплексной терапии у больных 1-й группы исследованный показатель несколько меняется – снижается только лишь на 9,5%, а у больных 2-й группы, получавших кверцетин по разработанной нами схеме – достоверно снижается на 34,9% ($p < 0,001$, $p_1 < 0,01$).

Как видно из табл. 3, до лечения уровень TNF- α в системном кровотоке у больных 1-й и 2-й групп достоверно не отличается. Установлено также, что под влиянием традиционной терапии у больных 1-й группы исследованный показатель статистически значимо не меняется, а у больных 2-й группы, получавших кверцетин в комплексном лечении – снижается на 31,4% ($p < 0,001$, $p_1 < 0,02$), хотя еще не полностью возвращается к норме.

Выводы

1. Установлено, что под влиянием традиционной комплексной терапии у больных 1-й группы уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α снижается на 9,5% и на 4,9%, соответственно, а у больных 2-й группы, получавших в комплексном лечении кверцетин по разработанной нами схеме – снижается на 34,9% ($p < 0,001$, $p_1 < 0,01$) и на 31,4% ($p < 0,001$, $p_1 < 0,02$) соответственно, что способствует восстановлению баланса исследуемых цитокинов, так как дисбаланс цитокинов является важным патогенетическим «пусковым» механизмом сосудистой ангиопатии у больных с СД [7], улучшению функции эндотелия и, как следствие, улучшению зрительных функций в среднем на 0,15 - 0,2 ед. (против 0,1 при традиционной терапии), стабилизации ДР и в силу антиоксидантных свойств препарата, по всей вероятности, торможению процессов пролиферации.

2. Применение кверцетина в комплексном лечении больных с ДР нормализация калибра микрососудов наступает на 4 дня быстрее, уменьшение микрогеморрагий на 6 дней быстрее, уменьшение отека макулы на 5 дней быстрее, чем при обычной комплексной терапии.

3. Таким образом, полученные результаты исследования свидетельствуют о большей эффективности кверцетина в комплексном лечении больных с ДР, чем традиционной терапии.

Литература

1. Алифанова Т.А. Диабет и проблема инвалидности / Т.А. Алифанова, Н.Н. Кушнир // Тезисы 2-ой международной научной конференции офтальмологов Причерноморья. – Одесса, 2004. – С.124.

2. Астахов Ю.С. Диабетологические центры – новый этап в создании специализированной помощи больным с диабетической ретинопатией / Ю.С. Астахов, Ф.Е. Шадринцев // Клиническая офтальмология. – 2001. – № 4. – С. 148-153.

3. Бездетко П.А. Диабетическая ретинопатия как проявление сахарного диабета / П. А. Бездетко, Я. В. Добрица // Пробизор. – 2008. – № 3. – С. 43-46.

4. Дудниченко А.С. Липосомальные лекарственные препараты в эксперименте и клинике / А.С. Дудниченко, Ю.М. Краснопольский, В.И. Швеи. – Харьков: РА-Каравелла, 2001. – 144 с.

5. Иванова Н.В. Влияние липофлавона на функциональную активность клеток сосудистого эндотелия у больных с диабетической ретинопатией в эксперименте (in vitro) / Н.В. Иванова, Н.А. Ярошева // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. – 2008. – Т.144, ч. 2. – С. 60-66.

6. Иванова Н.В. Патогенетическое обоснование применения липофлавона у больных с различными формами диабетической ретинопатии / Н.В. Иванова, Н.А. Ярошева // Клиническая фармакология. – 2008. – Т.12, № 2. – С. 11-16.

7. Иванова Н.В. Роль дисбаланса цитокинового гомеостаза в патогенезе диабетической ретинопатии / Н.В. Иванова, Н.А. Ярошева // Офтальмологический журнал. – 2008. – № 2. – С.11-14.

8. Пасечникова Н.В. Экспериментальное обоснование применения липофлавона для снижения степени послеоперационной воспалительной реакции / Н.В. Пасечникова, Р.А. Горшкова // Офтальмологический журнал. – 2006. – № 2. – С.36-40.

9. Пасечникова Н.В. Частота возникновения диабетической ретинопатии и эффективность лазеркоагуляции сетчатки при различных типах сахарного диабета / Н.В. Пасечникова, В.А. Науменко, Н.А. Старинец // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: зб.наук.праць. – Київ; Луганськ; Харків, 2002. – Вып.6 (45). – С. 223-228.

10. Петруня А.М. Использование комбинации глазных капель и внутривенных инъекций препарата «Липофлафон» у больных непролиферативной диабетической ретинопатией и его влияние на показатели системного иммунитета / А.М. Петруня, А.В. Спектор // Офтальмологический журнал. – 2007. – № 4. – С.13-16.

11. Сидорова М.В. Диабетическая ретинопатия / М.В. Сидорова // Патогенез, клиника, лечение. – К.: АБЕРС, 2006. – С. 156.

12. Трофимова С.В. Эффективность биорегуляторов при лечении диабетической ретинопатии / С.В. Трофимова, В.Х. Хавинсон // Вестник офтальмологии. – 2001. – № 3. – С. 11.

13. Buchner N. Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin / N. Buchner, A. Krumbein, S. Rohn // Commun. Mass. Spectrom. – 2006. – Vol. 20, № 21. – P. 3229-3235.

14. Huk I. Bioflavonoids quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischemic-reperfusion injury: an experimental study / I. Huk, V. Brozkovich, I. Nanobashvili // Br. J. Surg. – 1998. – Vol. 85, № 8. – P. 1080-1085.

15. Janlian C. Complexation of quercetin with three kinds of cyclodextrins: An antioxidant study / C. Janlian, L. Moyano, C. Yanez // *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* - 2006. - Vol. 8. - P.1214-1218.

Резюме

Ярошева Н.А. Використання флавоноїду - кверцетину в лікуванні хворих з діабетичною ретинопатією.

Обстежено 134 хворих (268 очей) з діабетичною ретинопатією (ДР), середній вік яких склав $39,7 \pm 8,2$ років. Встановлено, що при застосуванні ліпофлавоноу в комплексному лікуванні хворих з ДР нормалізація калібру мікросудин настає на 4 дні швидше, зменшення мікрогеморрагій на 6 днів швидше, зменшення набряку макули на 5 днів швидше, ніж при звичайній комплексній терапії. Показники рівня цитокінів IL-1 β і TNF- α достовірно швидше знижуються, ніж при лікуванні традиційною терапією. Що сприяє поліпшенню функції судинного ендотелію і, як наслідок, покращенню зорових функцій в середньому на 0,15-0,2 од. (проти 0,1 при традиційній терапії). Отримані результати дослідження свідчать про більшу ефективність терапії з застосуванням флавоноїду - кверцетину при лікуванні хворих з ДР, ніж традиційної терапії.

Ключові слова: діабетична ретинопатія, кверцетин, лікування.

Резюме

Ярошева Н.А. Применение флавоноида - кверцетина в лечении больных диабетической ретинопатией.

Обследовано 134 больных (268 глаз) с диабетической ретинопатией (ДР), средний возраст которых составил $39,7 \pm 8,2$ лет. Установлено, что при применении Липофлавона в комплексном лечении больных с ДР нормализация калибра микрососудов наступает на 4 дня быстрее, уменьшение микрогеморрагий на 6 дней быстрее, уменьшение отека макулы 5 дней быстрее, чем при обычной комплексной терапии. Показатели уровня цитокинов IL-1 β и TNF- α достоверно быстрее снижаются, чем при лечении традиционной терапией. Что способствует улучшению функции сосудистого эндотелия и, как следствие, улучшению зрительных функций в среднем на 0,15-0,2 ед. (против 0,1 при традиционной терапии). Полученные результаты исследования свидетельствуют о большей эффективности терапии с применением флавоноида - кверцетина при лечении больных с ДР, чем традиционной терапии.

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, кверцетин, лечение.

Summary

Yarosheva N.A. Application of flavonoid - quercetin at treatment of patients with diabetic retinopathy.

It is examined 134 patients (268 eyes) with diabetic retinopathy (DR), which middle age has compounded $39,7 \pm 8,2$ years. It is determined, that at Lipoflavon application in complex treatment of patients with DR normalization of caliber of microvessels begins on 4 days quicker, reduction of microhemorrhages on 6 days quicker, reduction of macula edema on 5 days quicker, than at ordinary complex therapy. Indexes of cytokines IL-1 β and TNF- α authentically quicker reduce, than at treatment by traditional therapy. Its promote improving of function of vascular endothelium and, as consequence, improving of visual functions on the average on 0,15-0,2 units (against 0,1 at traditional therapy). The received results of researches testify about larger efficacy of complex therapy with application of flavonoid - quercetin at treatment of patients with DR, than by traditional therapy.

Key words: diabetic retinopathy, quercetin, treatment.

Рецензент: д.мед.н., проф. А.М. Петруня

ЕКОЛОГІЧНІ ПРОБЛЕМИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТА КЛІНІЧНОЇ МЕДИЦИНИ