

ВИВЧЕННЯ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ ДІЇ ГЕЛЮ “ГІНГОВЕН” — НОВОГО ПРЕПАРАТУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ ВЕНОЗНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ НИЖНІХ КІНЦІВОК

Л.В.Яковлєва, І.В.Трутаєв*, О.О.Пастухов, Є.О.Ковальова

Національний фармацевтичний університет
ВАТ “Хімфармзавод “Червона зірка”*

Ключові слова: хронічна венозна недостатність; веноактивні препарати; антиексудативна дія; каштан кінський; гінкго білоба; гель

Наведені результати експериментального дослідження антиексудативної дії гелю на основі екстрактів насіння каштана кінського та листя гінкго білоба під назвою “Гінговен”. У дослідах на мишиах та щурах встановлено, що гель “Гінговен” проявляє виразну протинабрякову активність в умовах ексудації, спричиненої високою температурою, зимозаном, гістаміном та карагеніном. Виявлені переваги перед препаратами-аналогами у швидкості розвитку, тривалості та виразності антиексудативного ефекту. Отримані дані свідчать про пригнічуючий вплив композиції діючих компонентів гелю “Гінговен” на лейкотріензалежні механізми ексудації та здатність підвищувати резистентність судин до гістаміну та простагландинів, що відіграють важливу роль у патогенезі набряків у хворих з венозною недостатністю нижніх кінцівок.

Хронічна венозна недостатність нижніх кінцівок (ХВН) є одним з найбільш поширених захворювань периферичних судин. Згідно з узагальненими даними епідеміологічних досліджень на ХВН в різних країнах світу страждає до 60% працездатного населення [10]. Поширеність ХВН набула характеру важливої медичної проблеми, вирішення якої лежить як у площині використання активних підходів у хірургічному лікуванні, так і популяризації серед населення методів консервативної терапії (компресії та фармакотерапії) на ранніх стадіях ХВН [6].

Серед розмаїття лікарських засобів, що застосовуються для лікування ХВН, здатністю безпосередньо впливати на основні механізми патогенезу захворювання на клітинно-молекулярному рівні володіють лише так звані вено-

активні (флеботропні) препарати, здатні захищати венозну стінку від впливу місцевих медіаторів, окисників, стабілізувати мембрани ендотеліоцитів, знижувати проникність венул і капілярів, підвищувати тонус вен і їх еластичність, тобто чинити комплексну ендотеліопротекторну та венопротекторну дію [7, 9].

Необхідно наголосити, що серед веноактивних препаратів найбільшу доказову базу ефективності застосування при ХВН мають засоби на основі екстракту насіння каштана кінського, що відображене у систематичному огляді результатів рандомізованих контролюваних клінічних досліджень, оприлюдненому в Базі даних Кокрейна у 2006 році [11].

Зважаючи на те, що виключно важливим для запобігання розвитку і прогресування ХВН є здатність веноактивних препаратів нормалізувати підвищену проникність судинної стінки, метою даної роботи стало вивчення антиексудативної активності в умовах різних тест-систем нового препарата для лікування ХВН — гелю “Гінговен”.

Матеріали та методи
Експериментальні дослідження проведені з дозволу комісії з біоетики НФаУ на білих нелінійних щурах самцях з масою тіла 200-220 г, вирощених у ЦНДЛ НФаУ (112 особин), та білих нелінійних миших самцях з масою тіла 20-22 г, отриманих з розплідника СПДФО “О.Ю.Шаповалов” (м. Харків, 32 особини). Тварин утримували при кімнатній температурі $20\pm2^{\circ}\text{C}$, природному світловому режимі з вільним доступом до їжі та води; за 12 годин до початку експерименту їжу у тварин забирали. По завершенні експериментів усіх тварин зневживлювали шляхом дислокації шийних хребців під легким ефірним наркозом.

Об'єктом досліджень був новий препарат для лікування ХВН —

Л.В.Яковлєва — доктор фармац. наук, професор, завідувачка Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

І.В.Трутаєв — канд. біол. наук, директор з виробництва ВАТ “Хімфармзавод “Червона зірка” (м. Харків)

гель з робочою назвою “Гінговен”, розроблений на ВАТ “ХФЗ “Червона зірка” (м. Харків, Україна) під керівництвом директора з виробництва, канд. фарм. наук І.В. Трутаєва. До складу гелю входить комплекс БАР з виразною венотропною дією — екстракт насіння каштану кінського (кумарини, сапоніни) та екстракт листя гінкго білоба (флавоноїди).

Як референс-препарати у дослідженнях використовували аналоги гелю “Гінговен” за фармакологічною дією і частково за складом, які присутні на фармацевтичному ринку України: “Гінкор гель” (“Бофор Іпсен Індустрі”, Франція), що містить троксерутин та екстракт листя гінкго білоба, та “Венен Тайсс гель” (“Др. Тайсс Натурварен ГмбХ”, Німеччина), який містить екстракт насіння каштану кінського та екстракт квіток календули.

Дизайн досліджень включав формування 4 груп тварин по 8 особин у кожній: 1 — позитивний контроль — неліковані тварини з відтвореною патологією; 2 — тварини, у яких на тлі патології застосовували гель “Гінговен”; 3 і 4 — тварини, у яких на тлі патології застосовували референс-препаратори. Крім того, на моделях запалення стопи у шурів, викликаного карагеніном та гістаміном, як референс-препаратори використовували також засоби з виразною антиексудативною активністю в даних експериментальних умовах — гель “Диклак гель” (“Салютас Фарма ГмбХ”, Німеччина), що містить диклофенак — НПЗЗ з виразною антипростагландиновою активністю, і гель “Феністил” (“Новартіс Консьюмер Хелс СА”, Швейцарія), який містить синтетичний H1-гістамінблокатор диметинден.

Вивчення антиексудативної дії гелю “Гінговен” проводили на моделі термічного запалення стопи у мишій та трьох моделях гострого ексудативного запалення стопи у шурів, викликаного зимозаном, гістаміном та карагеніном [1, 3].

Термічне запалення викликали у мишій шляхом занурення

стопи правої задньої лапи тварини на 4 секунди в гарячу воду з температурою $65,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ [1]. Гель “Гінговен” та референс-препаратори наносили тонким шаром на обпеченою стопу в умовно терапевтичній дозі (УТД) в два прийоми — відразу після моделювання запалення та через 1 годину після першого нанесення. Величина УТД була визначена у передніх скринігових дослідженнях і становила 2,0 г/кг для мішій та 1,0 г/кг для шурів. Через 24 години після індукції запалення тварин знеживлювали, стопи обох задніх лап тварин (запалену та інтактну) відрізали на рівні гомілковостопного суглоба і зважували.

Антиексудативну активність розраховували за формулою:

$$\text{АА} = \frac{\Delta M_k - \Delta M_d}{\Delta M_k} \cdot 100\%,$$

де: АА — антиексудативна активність препарату, %;
 ΔM_k — середньостатистичне значення різниці між масою запаленої та інтактної стоп нелікованих тварин, мг;
 ΔM_d — середньостатистичне значення різниці між масою запаленої та інтактної стоп тварин, які отримували лікування, мг.

Гостре ексудативне зимозанове, гістамінове та карагенінове запалення стопи викликали у шурів шляхом субплантарного введення у стопу правої задньої лапи 0,1 мл 5% сусpenзії зимозану (НВО “Біолар”, Латвія), 0,1% розчину гістаміну (“Fluka”, Швейцарія), 1% розчину карагеніну (“Sigma-Aldrich”, США), відповідно [3].

Гель “Гінговен” та референс-препаратори наносили тонким шаром на уражену стопу тварини в УТД в два прийоми — за 2 та 1 годину до введення флогогену. Про розвиток набряку судили за збільшенням об’єму стопи, який вимірювали за допомогою механічного онкометра в динаміці протягом 3 годин після введення зимозану та гістаміну і 5 годин — карагеніну.

Антиексудативну активність препаратів розраховували за формулою:

$$\text{АА} = \frac{\Delta V_k - \Delta V_d}{\Delta V_k} \cdot 100\%,$$

де: АА — антиексудативна активність препарату, %;
 ΔV_k — середньогрупове значення різниці між об’ємом запаленої та інтактної стоп нелікованих тварин, мг;
 ΔV_d — середньогрупове значення різниці між об’ємом запаленої та інтактної стоп тварин, які отримували лікування, мг.

Отримані в експериментах дані представляли як “середньостатистичне значення \pm помилка середнього” ($x \pm S_x$). Статистичну обробку даних проводили, використовуючи багатофакторний дисперсійний аналіз, критерії Ньюмана-Кейлса та Даннета на рівні значущості 0,05 [2, 5].

Результати та їх обговорення

Відомо, що механізм розвитку набряку при термічному впливі має спільні ланки механізму розвитку з набряком м’яких тканин гомілки та стопи людини, який розвивається внаслідок венолімфатичної патології при ХВН нижніх кінцівок [6]. У таблиці представлені результати порівняльного вивчення антиексудативної активності гелю “Гінговен” та референс-препараторів на моделі термічного запалення стопи у мішей. Застосування препаратів привело до виразного пригнічення набрякості тканин стопи тварин, яка зазнала впливу термічного подразника, про що свідчить статистично значуще зниження її маси. При порівнянні виразності антиексудативної дії гелю “Гінговен” та референс-препараторів значущих відмінностей не виявили. Активність гелю “Гінговен” становила близько 46%, у референс-препараторів “Гінкор гель” і “Венен Тайсс гель” — 53% та 39% відповідно.

Для розширення уявлення про механізми протинабрякової дії гелю “Гінговен” проводили дослідження на моделях ексудативного запалення стопи у шурів, викликаного зимозаном, гістаміном та карагеніном.

Таблиця

Антиексудативна активність гелю “Гінговен” та референс-препаратів на моделі термічного запалення стопи у мишей, $x \pm S_x$, $n=8$

| Експериментальна група | Різниця між масою запаленої та інтактної стоп, мг | Антиексудативна активність, % |
|------------------------|---|-------------------------------|
| Позитивний контроль | 57±6 | - |
| “Гінговен” | 31±3* | 46,2 |
| “Гінкор гель” | 27±2* | 52,5 |
| “Венен Тайсс гель” | 35±4* | 39,2 |

Примітка: * — відмінності статистично значущі щодо групи позитивного контролю, $p < 0,05$

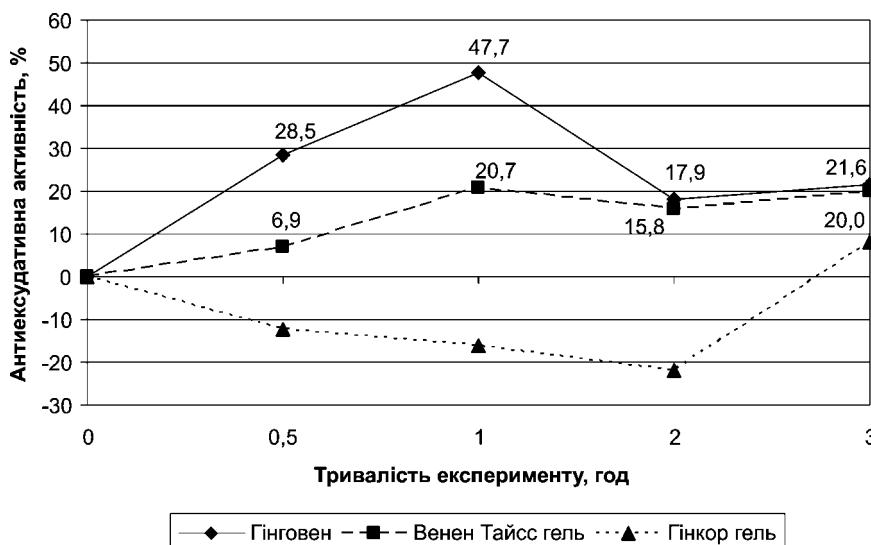


Рис. 1. Динаміка антиексудативної дії гелю “Гінговен” та референс-препаратів на моделі гострого ексудативного запалення стопи у щурів, викликаного зимозаном

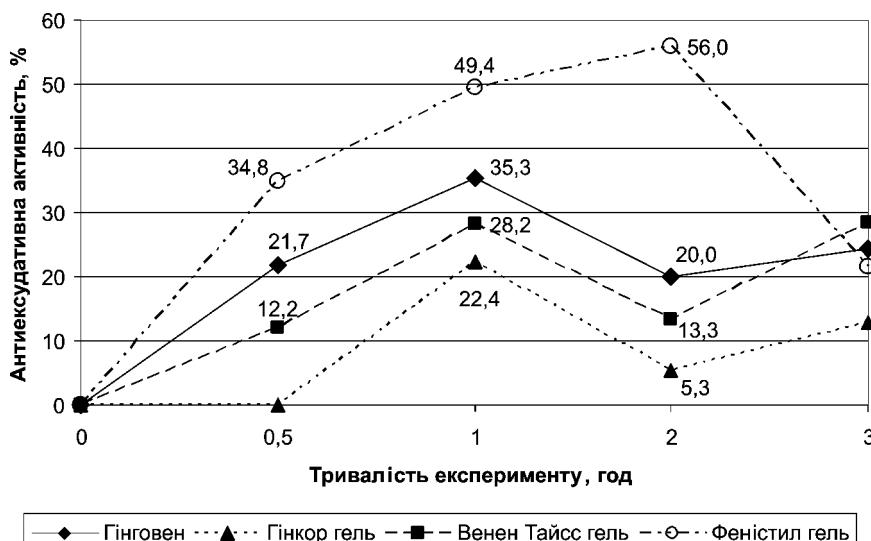


Рис. 2. Динаміка антиексудативної дії гелю “Гінговен” та референс-препаратів на моделі гострого ексудативного запалення стопи у миші, викликаного гістаміном

Як правило, прояв антиексудативної дії в умовах набряку, викликаного ін’єкцією зимозану, асоціюється з антилейкотрієновою активністю препарату, яка є виключно важливою для веноактивних препаратів, бо достеменно встановлено, що лейкотрієни відіграють важливу роль у патогенезі ХВН [4, 6]. Отримані нами результати свідчать про виразну здатність гелю “Гінговен” пригнічувати процеси ексудації, опосередковані через лейкотрієни. Так, у тварин, у яких застосовували гель “Гінговен”, спостерігали статистично значуще пригнічення приросту об’єму стопи на 28,2% та 47,8% порівняно з нелікованими тваринами відповідно через 0,5 та 1 годину після введення флогогену (рис. 1). Показник пригнічення більш ніж вдвічі перевищує такий у референс-препарата “Венен Тайсс гель” — 6,4% та 20,9% відповідно. У препарату “Гінкор гель” у даному експерименті антиексудативна активність виявлено не була.

Згідно з даними літератури екстракт насіння каштану кінського проявляє певний антагонізм з дією гістаміну і серотоніну, підвищуючи резистентність судин до впливу цих медіаторів [8]. В умовах гістамініндукованого запалення гель “Гінговен” проявляє статистично значущу антиексудативну активність вже в першу годину після введення гістаміну, тоді як дія референс-препаратів проявляється пізніше (рис. 2). При застосуванні гелю “Гінговен” спостерігали статистично значуще пригнічення приросту об’єму стопи на 21,7% та 35,3% порівняно з нелікованими тваринами відповідно через 0,5 та 1 годину після введення флогогену. Виразність протиабріакового ефекту гелю “Гінговен” в 1,5-2 рази перевищує показники референс-препаратів “Венен Тайсс гель” (11,6% та 27,5%) і “Гінкор гель” (0 та 21,6%), що свідчить про його більш потужну антигістамінну активність.

При вивчені антиексудативної дії на моделі карагенінового набряку встановлено, що станом

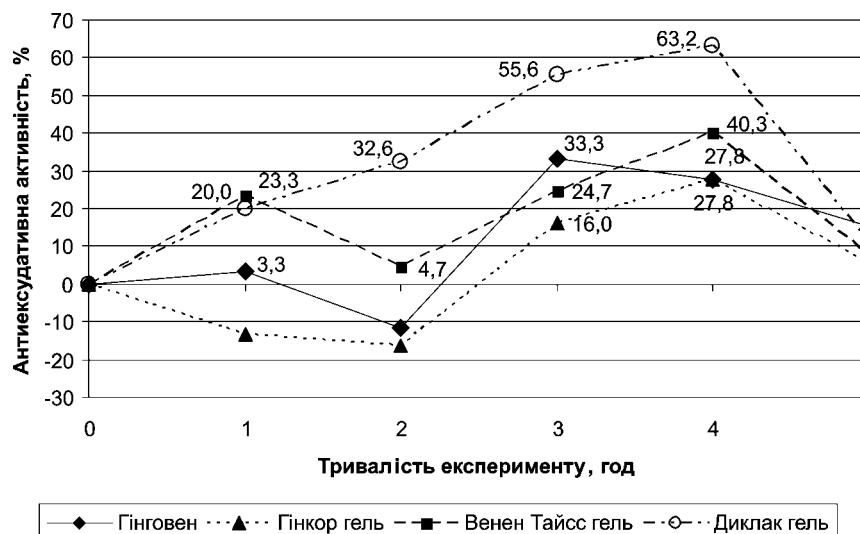


Рис. 3. Динаміка антиексудативної дії гелю “Гінговен” та референс-препаратів на моделі гострого ексудативного запалення стопи у щурів, викликаного карагеніном

на 3-ю та 4-ту години експерименту у щурів, яким застосовували гель “Гінговен”, набряклість тканин лапи була статистично значуще нижчою (на 33,8% та 27,8% відповідно) порівняно з нелікованими тваринами. У референс-препаратів подібну дію спосте-

рігали лише на 4-й годині експерименту (рис. 3). Очікувано найбільш високу активність на рівні 55-60% спостерігали у референс-препарату “Диклак Гель”, який проявляє потужну антипростагландинову активність, властиву НПЗЗ. Загалом, вичерпних даних

щодо впливу діючих компонентів гелю “Гінговен”, як і інших веноактивних препаратів, на синтез простагландинів групи Е немає, а ймовірно, їх антиексудативна дія зумовлена здебільшого підвищенням загальної резистентності капілярів, ущільненням їх стінки і зниженням проникності.

ВИСНОВКИ

1. У результаті проведених досліджень встановлено стала виразну антиексудативну активність гелю “Гінговен” в умовах різних тест-систем.

2. Отримані дані дозволяють передбачати виразний вплив на лейкотріензалежні механізми патогенезу ХВН та здатність підвищувати резистентність судин до гістаміну та простагландинів, що дозволить ефективно впливати на набрякові процеси у хворих.

3. Виявлені чіткі переваги гелю “Гінговен”, які полягають у більш швидкій, тривалій та потужній протинабряковій дії у порівнянні з референс-препаратами, які в теперішній час широко застосовуються для лікування ХВН.

ЛІТЕРАТУРА

- Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. — М.: Медицина, 1974. — 123 с.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. — М.: Практика, 1998. — 459 с.
- Дроговоз С.М., Зупанець І.А., Мохорт М.А. та ін. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби / У кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекоменд. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стєфанова. — К., 2001. — С. 292-306.
- Савельев В.С., Гологонский В.А., Кириенко А.И. и др. Флебология: Руководство для врачей / Под ред. В.С.Савельева. — М.: Медицина, 2001. — 664 с.
- Салимов Р.М. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов / В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум, 2000. — С. 349-354.
- Стуров Н. //Врач. — 2008. — №4. — С. 22-24.
- Чазов Е.И., Беленков Ю.Н., Борисова Е.О. и др. Рациональная фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний: Руковод. для практ. врачей / Под ред. Е.И.Чазова, Ю.Н.Беленкова. — М.: Литтерра, 2005. — 972 с.
- Guillaume M., Padoleau F. //Arzneimittelforschung. — 1994. — Vol. 44 (1). — P. 25-35.
- Robert T. //Circulation. — 2005. — Vol. 111. — P. 2398-2409.
- Robertson L., Evans C., Fowkes F.G.R. //Phlebology. — 2008. — Vol. 23 (3). — P. 103-111.
- Pittler M.H., Ernst E. Horse chestnut seed extract for chronic venous insufficiency. — Cochrane Database of Systematic Reviews, 2006, Issue 1. — Art. No.: CD003230. DOI: 10.1002/14651858.CD003230.pub3.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (057) 714-27-15.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 16.06.2009 р.