

**В.В. Костыро¹, Я.А. Костыро^{1,2}, С.А. Лепехова², И.В. Бабушкина², И.А. Шурыгина²,
В.К. Станкевич¹, Б.А. Трофимов¹**

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЕНОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «АГСУЛАР®» НА МОДЕЛЯХ СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ

¹ Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (Иркутск)

² ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН (Иркутск)

Варикозная болезнь является самым распространенным сосудистым заболеванием нижних конечностей, лежащим в основе развития хронической венозной недостаточности (ХВН). Современный российский фармацевтический рынок лекарственных средств для наружного применения, используемых во флебологии, представлен в основном дорогостоящими лекарственными препаратами импортного производства. Поэтому разработка оригинальных отечественных высокоэффективных и доступных препаратов для профилактики и лечения ХВН является актуальной проблемой медицинской и фармацевтической науки.

В Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН в результате химической модификации полисахарида лиственницы сибирской разработана фармакологически активная субстанция Агсулар®, обладающая гиполлипидемической и антикоагулянтной активностью. На ее основе разработаны оригинальные фармацевтические композиции (препарат «Агсулар®») в виде твердых и мягких лекарственных форм для наружного применения системного и топического действия в виде гидрофильного геля и ректальных капсул, содержащих гидрофильный гель.

На моделях сосудистой патологии изучено венопротекторное действие препарата «Агсулар®». Установлено, что в механизме венопротекторного действия препарата «Агсулар®» ведущую роль играет противовоспалительная активность и антитранссудативное действие — уменьшение проницаемости сосудов и повышение тонуса их стенок. Противовоспалительная активность проявляется в уменьшении выраженности нейтрофильной инфильтрации в области раны, а также антиэкссудативным действием, заключающимся в снижении выраженности отека стромы и уменьшении клеточного отека. Таким образом, проведенные исследования указывают на перспективность применения препарата «Агсулар®» для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности и варикозной болезни в частности.

Ключевые слова: Агсулар, хроническая венозная недостаточность, венопротекторное действие, лекарственные формы

RESEARCH OF VEIN-PROTECTIVE EFFECT OF THE PREPARATION “AGSULAR”® ON THE MODELS OF VASCULAR PATHOLOGY

**V.V. Kostyrov¹, Ya.A. Kostyrov¹, S.A. Lepekhova², I.V. Babushkina², I.A. Shurygina²,
V.K. Stankevich¹, B.A. Trofimov¹**

¹ A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, Irkutsk

² Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk

Varicose disease is the most common vascular pathology of lower extremities that causes development of chronic venous insufficiency (CVI). Modern Russian pharmaceutical market of medicines external application used in phlebology is mainly presented by expensive imported medicines. That's why development of original Russian high-effective and available medicines for prevention and treatment of chronic venous insufficiency is an actual problem of medical and pharmaceutical sciences.

Pharmacologically active substance "Agsular"® that has hypolipidemic and anticoagulant activity was developed in A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS as the result of chemical modification of polysaccharide of Siberian larch. Original pharmaceutical compositions (preparation "Agsular"®) in solid and liquid medicinal forms for external application in forms of hydrophilic gel and rectal capsules with hydrophilic gel were developed on the basis of that active substance.

Veinprotective effect of "Agsular"® preparation was studied on the models of vascular pathology. It was determined that antiinflammatory activity and anti-transudative effect — decrease of vessels' permeability and increase of their walls' tone — were of most importance in the mechanism of veinprotective effect of the preparation "Agsular"®. Anti-inflammatory activity is developed in decrease of intensity of neutrophil infiltration in wound area and in anti-exudative effect that is presented by the decrease of stroma and cell hypostases.

Thus our researches indicates prospectivity of use of "Agsular"® preparation for prevention and treatment of chronic venous insufficiency and varicosis in particular.

Key words: Agsular®, chronic venous insufficiency, vein-protective effect, drug forms

ВВЕДЕНИЕ

Среди причин развития хронической венозной недостаточности (ХВН) ведущее место по частоте выявления и разнообразию клинических проявлений занимает варикозная болезнь,

которая остается самым распространенным сосудистым заболеванием нижних конечностей. Несмотря на развитие диагностической техники и появление новых эффективных методов лечения, количество больных с годами не только не

уменьшается, а по данным некоторых авторов, даже несколько увеличивается. Так варикозной болезнью страдают порядка 30 % женщин и 10 % мужчин, причем наиболее подвержены заболеванию люди самого трудоспособного возраста — от 20 до 40 лет [11].

По данным В.С. Савельева, статистический анализ показывает, что 35—38 млн. россиян имеют хронические заболевания венозной системы нижних конечностей, причем 15 % из них страдают декомпенсированными формами заболевания с выраженными трофическими нарушениями и рецидивирующими язвами. Наличие трофических язв на нижних конечностях значительно снижает качество жизни пациентов, приводит в некоторых случаях к инвалидизации больных, что наносит многомиллиардный ущерб государству [5]. Около 48 % флебологических больных становятся инвалидами II—III группы [6].

Наличие большого количества больных с декомпенсированными формами ХВН и варикозной болезнью в частности говорит о низком уровне профилактических и лечебных мероприятий амбулаторного звена медицины. Современный российский фармацевтический рынок лекарственных средств для наружного применения, используемых во флебологии, представлен в основном дорогостоящими лекарственными препаратами импортного производства: «Лиотон®» (Берлин-Хеми/Менарини Фарма ГмбХ, Германия: гель 1000 МЕ/г), «Гепатромбин® Г» (Хемофарм А.Д., Сербия: мазь), «Троксевазин®» (Балканфарма — Троян А.Д., Болгария: гель 2%), «Венорутон®» (Новартис Консьюмет Хэлс С.А., Швейцария: гель 2%) [1]. Поэтому разработка оригинальных отечественных высокоэффективных и доступных препаратов для профилактики и лечения ХВН является актуальной проблемой медицинской и фармацевтической науки.

В Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН на основе полисахарида лиственницы сибирской разработана оригинальная фармакологически активная субстанция Агсулар®, обладающая гипополипидемической и антикоагулянтной активностью [7, 8]. По данным проведенного в 2009—2011 гг. полного комплекса доклинических исследований, по эффективности она не уступает препарату «Вессел Дуэ Ф®» (сулодексид) (антикоагулянтная и антитромботическая активность) и препарату «Зокор®» (симвастатин) (гипополипидемическая и антиатерогенная активность).

На основе субстанции Агсулар® разработаны фармацевтические композиции (препарат «Агсулар®») в виде твердых и мягких лекарственных форм для наружного применения системного и топического действия в виде гидрофильного геля и ректальных капсул, содержащих гидрофильный гель. Полученные лекарственные формы на основе субстанции Агсулар® являются перспективными препаратами для профилактики и лечения ХВН, что определяет необходимость исследования их безопасности, а также фармакологических и фармацевтических свойств.

Поэтому целью работы является изучение венопротекторного действия препарата «Агсулар®» на моделях сосудистой патологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на базе научного отдела экспериментальной хирургии с виварием ФГБУ «НЦРВХ» СО РАМН (директор — чл.-корр. РАМН, профессор Е.Г. Григорьев) с использованием 64 белых крыс линии Wistar (вес 220—250 г, возраст — 6 месяцев). Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к воде и пище соответственно нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» (вет. удостоверение 238 № 0000023 от 28 ноября 2011 г., служба ветеринарии Иркутской области). Опыты на животных выполнялись в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, которые регламентированы «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Приказом МЗ СССР №742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.85 г. «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных», а также основывались на положениях Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964 г., дополненной в 1975, 1983 и 1989 гг.

Антиэкссудативную активность исследуемой фармацевтической композиции на основе субстанции Агсулар® в виде мягкой лекарственной формы для наружного применения топического действия в виде гидрофильного геля изучали на модели асептической раны по методу Фенчина [10].

Все оперативные вмешательства выполнены под общим обезболиванием в асептических условиях операционной. У всех животных в области спины по паравертебральной линии наносили рану до собственной фасции длиной 4 см. На равном расстоянии накладывали три узловых шва, сближающих края полученной раны. Животным опытной группы сразу после операции и затем на протяжении всего эксперимента наносили исследуемый гель, а крысам контрольной группы — гелевую основу, не содержащую субстанцию Агсулар®.

Для гистологической оценки фармакологической активности фрагменты линейной раны и сформированной на ее месте соединительной ткани фиксировали раствором FineFix (Milestone, Италия). Полученный материал заливали в парафин, готовили срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином [3].

Антитранссудативную активность исследуемой фармацевтической композиции на основе субстанции Агсулар® в виде мягкой лекарственной формы для наружного применения топического действия в виде гидрофильного геля изучали на модели острого венозного застоя [12].

Для этого регистрировали динамику прироста объема хвоста экспериментальных животных в

определенные промежутки времени после наложения лигатуры (0–4 часа), а также по динамике инволюции отека после снятия лигатуры (5–8 часов).

В качестве препаратов сравнения использованы «Лиотон®» (Берлин-Хеми/Менарини Фарма ГмбХ, Германия: гель 1000 МЕ/г) и «Троксевазин®» (Балканфарма – Троян А.Д., Болгария: гель 2%). Животным опытных групп наносили исследуемые гели до наложения лигатуры за 1 час, после наложения лигатуры и сразу же после снятия лигатуры, а крысам контрольной группы – гелевую основу, не содержащую субстанцию Агсулар®, в аналогичные временные промежутки.

Оценку системного действия препарата «Агсулар®» проводили по влиянию исследуемой твердой лекарственной формы для наружного применения в виде ректальных капсул, содержащих гидрофильный гель, на проницаемость сосудов по методу В. Менкина [2].

В качестве препарата сравнения использован «Нигепан®» (ОАО «Нижфарм», Россия: суппозитории). Животным опытных групп в течение 14 дней ректально вводили исследуемые лекарственные формы, а крысам контрольной группы – гелевую основу, не содержащую субстанцию Агсулар®. Затем под кетамин-дроперидол-атропиновым наркозом у крыс депилировали области живота и правого бедра, препарировали бедренную вену, в которую вводили 0,5% водный раствор трипановой сини (Trypan blue, Sigma) из расчета 0,5 мл на 250 г веса животного. На депилированную поверхность живота наносили 0,1 мл толуола и регистрировали время развития синего окрашивания данной области.

Все экспериментальные данные фармакологических исследований были статистически обработаны ($P \geq 95\%$), используя непараметрический метод (критерий Манна – Уитни), приведенный в пакете STATISTICA 6.0, с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата и определением ошибки средней арифметической при различных значениях n (число результатов) [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании топического действия на модели асептической раны по Фенчину было показано, что разработанная на основе субстанции Агсулар® мягкая лекарственная форма для наружного применения в виде гидрофильного геля оказывает противовоспалительную и антиэкссудативную активности.

Так у контрольной группы животных процесс заживления линейной раны морфологически соответствовал канонам развития воспалительного ответа, при котором пик выраженности нейтрофильной инфильтрации в зоне повреждения наблюдался на 1-е сутки (рис. 1).

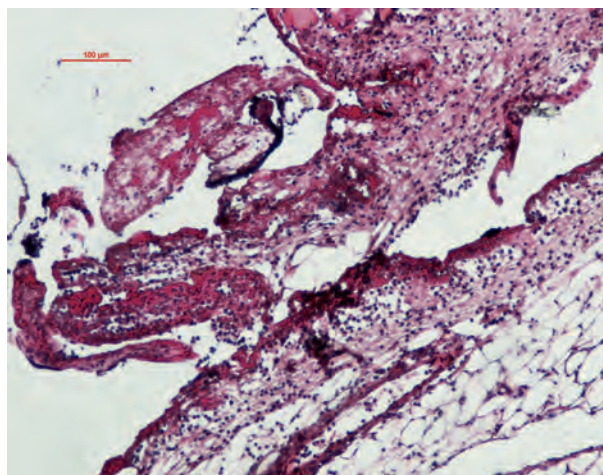


Рис. 1. Выраженная нейтрофильная инфильтрация в области линейной раны по Фенчину в контрольной группе животных (1-е сутки, окраска гематоксилин-эозином).

Применение исследуемой фармацевтической композиции уменьшило выраженность нейтрофильной инфильтрации в области раны по сравнению с контролем (рис. 2), что свидетельствует о противовоспалительном эффекте препарата «Агсулар®».

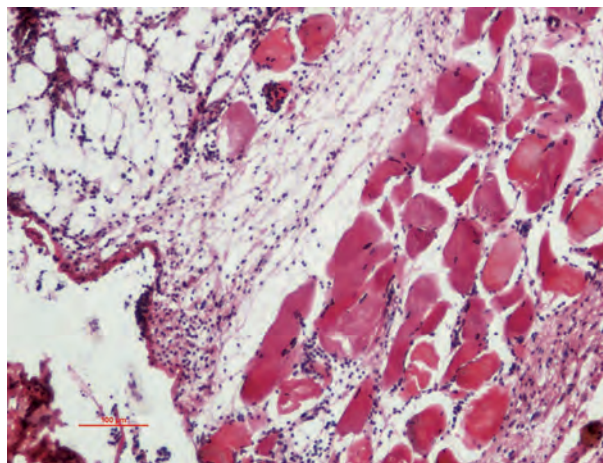


Рис. 2. Умеренно выраженная нейтрофильная инфильтрация в области линейной раны по Фенчину в группе животных, обработанных гидрофильным гелем на основе субстанции Агсулар® (1-е сутки, окраска гематоксилин-эозином).

Отек является важным признаком воспалительного процесса. Пик его выраженности как в группе контроля, так и в опытной группе животных, приходился на 1-е сутки после моделирования линейной раны.

При этом исследуемый гидрофильный гель обладал антиэкссудативным действием, проявляющимся в снижении выраженности отека стромы и уменьшении клеточного отека по сравнению с контролем. Репрезентативные фотографии гистологических препаратов представлены на рисунках 3 и 4.

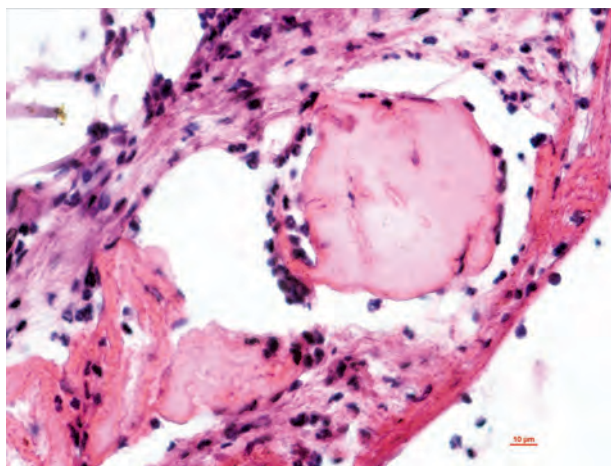


Рис. 3. Выраженный отек мышцы в области линейной раны по Фенцину в контрольной группе животных (1-е сутки, окраска гематоксилин-эозином).

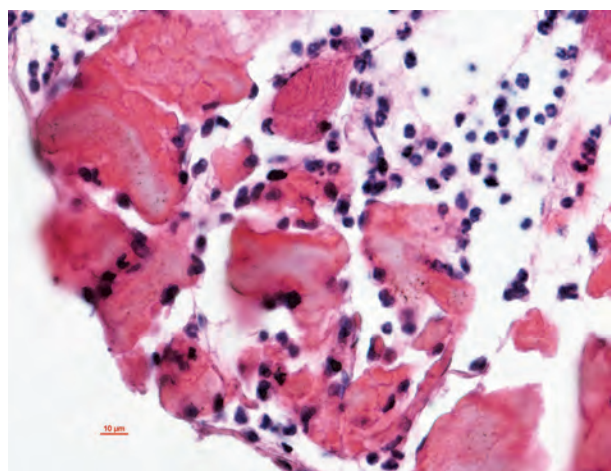


Рис. 4. Слабо выраженный отек мышцы в области линейной раны по Фенцину в группе животных, обработанных гидрофильным гелем на основе субстанции Агсулар® (1-е сутки, окраска гематоксилин-эозином).

Таким образом, мягкая лекарственная форма препарата «Агсулар®» для наружного применения в виде гидрофильного геля обладает противовоспалительным и антиэкссудативным действием.

Противоотечное действие препарата «Агсулар®» проявляется и при моделировании отека невоспалительного генеза. Так, на модели острого венозного застоя в хвосте экспериментальных животных, вызванного наложением лигатуры, было показано, что гидрофильный гель на основе субстанции Агсулар® оказывает сопоставимый с официальными препаратами «Лиотон 1000® гель» и «Троксевазин® гель 2%» антиэкссудативный эффект. Усредненные кривые динамики транссудации представлены на рисунке 5.

При этом максимальная степень отека, вызванного острым венозным застоем, развивалась к 4-му часу после сдавливания (наложения лигатуры). В контрольной группе животных этот показатель достиг наибольшего значения (63 % от исходного уровня) и не исчезал даже через 4 часа после снятия лигатуры (25 % от исходного уровня). В опытных группах исследуемые препараты подавляли транс-

судацию в острый период венозаза через 4 часа после наложения лигатуры (25 – 33 %) и усиливали резорбцию транссудата после ее снятия (4 – 8 % против 25 % в контрольной группе).

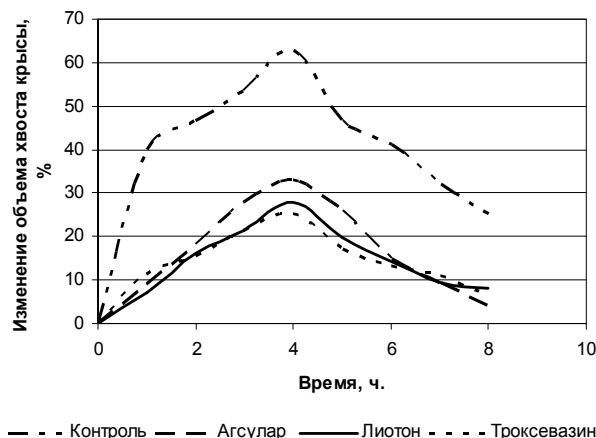


Рис. 5. Влияние венопротекторных препаратов на развитие и инволюцию отека, вызванного острым венозным застоем в хвосте крыс.

Таким образом, препарат «Агсулар®» обладает венопротекторным (антиэкссудативным) действием, в основе которого лежит уменьшение проницаемости венозных сосудов и повышение тонуса их стенок.

Эти данные были подтверждены и при изучении системного действия твердой лекарственной формы на основе субстанции Агсулар® для наружного применения в виде ректальных капсул, содержащих гидрофильный гель.

Так, в контрольной группе животных появление синего окрашивания регистрировалось в пределах $1,38 \pm 0,05$ минут, в группе Нигепана® этот показатель составлял $2,13 \pm 0,08$ минут, а группе Агсулара® – $5,09 \pm 0,12$ минут соответственно. Следовательно, лекарственная форма системного действия на основе субстанции Агсулар® оказывает сопоставимое с препаратом сравнения влияние на сосудистую проницаемость, заключающееся в повышении стабильности стенок сосудов.

Таким образом, в результате изучения фармакологической активности фармацевтических композиций на основе субстанции Агсулар® на моделях сосудистой патологии было показано выраженное венопротекторное действие, в механизме которого ведущую роль играет противовоспалительная активность, уменьшение проницаемости сосудов и повышение тонуса их стенок, что указывает на перспективность применения препарата «Агсулар®» для профилактики и лечения ХВН, которая требует дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственный реестр лекарственных средств России. РЛС-Энциклопедия лекарств / Под ред. Г.Л. Вышковского. – М.: 2007. – Вып. 15.
2. Менкин В. Динамика воспаления. – М.: Медгиз, 1948. – 230 с.

3. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. — Л.: Медицина, 1969. — 422 с.

4. Приказ № 755 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных». — М.: Министерство здравоохранения СССР.

5. Савельев В.С. Современные направления в хирургическом лечении хронической венозной недостаточности // Флебологическая. — 1996. — № 1. — С. 5–7.

6. Савельев В.С., Кириенко А.И., Богачев В.Ю. Венозные трофические язвы. Мифы и реальность // Флебологическая. — 2000. — № 11. — С. 5–10.

7. Свидетельство на товарный знак «Агсулар®» № 398618 от 19.01.2010 г. / Правообладатель: Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН.

8. Способ получения сульфатированных производных арабиногалактана, обладающих антикоагу-

лянтной и гиполипидемической активностью: Пат. 2319707 Рос. Федерация: МПК С07Н3/02, С08В37/00 / Костыро Я.А., Ганенко Т.В., Медведева С.А., Сухов Б.Г., Трофимов Б.А.; Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН. — № 2007100464/04; заявл. 09.01.2007; опубл. 20.03.2008; Бюл. № 8. — 8 с.

9. Спрейс И.Ф., Алферова М.А., Михалевиц И.М., Рожкова Н.Ю. Основы прикладной статистики (использование Excel и Statistica в медицинских исследованиях): учеб. пособие. — Иркутск: РИО ГИУВа, 2006. — 71 с.

10. Фенчин К.М. Заживление ран. — К.: Здоров'я, 1979. — 168 с.

11. Шулуто А.М., Крылов А.Ю. Варикозная болезнь. Современные принципы лечения. — М.: Миклош, 2003. — 128 с.

12. Nordmann H., Gulati O.P. Hemodynamic studies in acute venous stasis edema in rats // Experimentia. — 1984. — Vol. 40, N 4. — P. 346–348.

Сведения об авторах

Костыро Виталий Викторович – соискатель лаборатории прикладной химии Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1)

Костыро Яна Антоновна – кандидат фармацевтических наук, научный сотрудник лаборатории прикладной химии Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1; e-mail: yanakos@irioch.irk.ru)

Лепехова Светлана Александровна – доктор биологических наук, заведующая научным отделом экспериментальной хирургии с виварием ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН (664049, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100; e-mail: lepekova_sa@mail.ru)

Бабушкина Инна Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научного отдела коронарного атеросклероза ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, заместитель директора по инновационной деятельности, заведующий лабораторией патоморфологии ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН

Станкевич Валерий Константинович – доктор химических наук, заведующий лабораторией прикладной химии Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН

Трофимов Борис Александрович – доктор химических наук, академик РАН, директор Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН