

УДК 616.14-007.64-018.61-08:615.27

К МЕХАНИЗМУ ДЕЙСТВИЯ МИКРОНИЗИРОВАННОЙ ОЧИЩЕННОЙ ФРАКЦИИ ФЛАВОНОИДОВ НА ГЛАДКОМЫШЕЧНЫЙ АППАРАТ СТЕНКИ ВЕНЫ ПРИ ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНИ

¹Мельников М.В., ²Ерофеев Н.П., ¹Щирая Е.А.

¹ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России», Санкт-Петербург;

²ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, e-mail: hot-i@mail.ru

Обследовано 109 больных варикозным расширением вен нижних конечностей. Во время флебэктомии производился забор фрагментов большой подкожной вены в ее проксимальном и дистальном отделах. Биоптаты были подвергнуты гистологическому исследованию, а их биомеханические свойства были изучены на физиологической установке Ugo Basile (Италия). Было установлено, что спонтанной сократительной активностью обладали все исследуемые фрагменты вены, однако сила эластического напряжения и амплитуда фазных сокращений зависели от степени выраженности флебосклероза. Уровень базального тонуса и амплитуда фазных сокращений резко снижались (более чем в два раза) при выраженной эктазии ствола большой подкожной вены, что было характерно для больных пожилого возраста, с декомпенсированными формами хронической венозной недостаточности и длительным течением заболевания. Нарушения сократительной активности венозной стенки были напрямую связаны с прогрессирующими явлениями флебосклероза, что подтверждено при гистологическом исследовании. Серия экспериментов доказала, что микронизированная очищенная фракция флавоноидов обладает выраженным флеботонизирующим действием, которое регистрируется даже в условиях денервированного препарата.

Ключевые слова: варикозное расширение вен нижних конечностей, стенка большой подкожной вены, флебосклероз, микронизированная очищенная фракция флавоноидов

TO THE MECHANISM OF IDENTITIES MICRONIZATION PURIFIED FRACTIONS OF FLAVONOID ON SMOOTH APPARATUS OF VEIN WALL WITH VARICOSE VEINS

¹Melnikov M.V., ²Erofeev N.P., ¹Schiraya E.A.

¹Mechnikov North-West State Medical University, St. Petersburg;

²St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, e-mail: hot-i@mail.ru

We examined 109 patients with varicose veins of the lower extremities. During phlebectomy fragments of the great saphenous vein in its proximal and distal was extracted Tissue samples were subjected to histological examination, and their biomechanical properties were studied for physiological setting Ugo Basile (Italy). The spontaneous contractile activity was found in all studied fragments, but the strength of the elastic phase and the amplitude of voltage reductions depended on the severity flebosclerosis. Level of basal tone and amplitude-phase reductions declined sharply (more than twice) in severe ectasia trunk of the great saphenous vein, which was typical for elderly patients with decompensated forms of chronic venous insufficiency and long-term course of the disease. Violations of the contractile activity of the venous wall were directly linked to the progressive phenomena phlebosclerosis that is confirmed by histological examination. A series of experiments proved that the micronized purified flavonoid fraction has a strong flebotonic action that registers even in the denervated preparation.

Keywords: varicose veins of the lower extremities, the wall of the great saphenous vein, flebosclerosis, micronized purified flavonoid fraction

Варикозное расширение вен нижних конечностей (ВРВНК) и связанная с ним хроническая венозная недостаточность (ХВН) являются чрезвычайно актуальной медико-социальной проблемой [7]. Согласно обобщенным данным ряда эпидемиологических исследований, 25–33% женщин и 10–20% мужчин имеют различные формы хронических заболеваний вен нижних конечностей, требующих специализированного лечения [6]. Основным методом лечения ВРВНК является хирургическое [5], при этом широкое распространение, наряду с применением компрессионных средств [3], получила фармакотерапия [4]. Основу большинства флеботропных препаратов составляют биофла-

воноиды [1]. Наибольшее распространение ввиду хорошей переносимости и выраженной терапевтической эффективности получила микронизированная очищенная флавоноидная фракция (МОФФ), признанная «эталонным» флеботропным препаратом [4].

Механизм действия МОФФ отличается своей разноплановостью и позволяет воздействовать на различные звенья патогенеза ХВН: увеличивает венозный тонус за счет пролонгации действия норадреналина, обладает высокой тропностью к венозному эндотелию, нормализует проницаемость капилляров, подавляет адгезию лейкоцитов к эндотелию, оказывает определенный противовоспалительный эффект, улучшает

лимфодренаж и реологические свойства крови [10]. Большинство клинических работ, посвященных эффективности применения МОФФ при ВРВНК, основаны на оценке динамики ряда субъективных признаков (жалоб больного), изменения качества жизни по данным различных опросников или объективных показателей, таких как выраженность отека, сроки заживления трофических расстройств и т.п. [8, 9]. При этом влияние МОФФ на сократительную активность стенки большой подкожной вены при ВРВНК изучено недостаточно, особенно с учетом вариантов течения заболевания, степени и выраженности ХВН [2].

Цель работы: изучение сократительной активности биоптатов большой подкожной вены с учетом выраженности проявлений ХВН и при воздействии на них препаратов, содержащих МОФФ.

Материалы и методы исследования

В исследование включено 109 больных с ВРВНК, находившихся на лечении в клинике общей хирургии СЗГМУ им. И.И. Мечникова в период с 2010 по 2012 год. Возраст пациентов составил от 28 до 68 лет, большинство из них были лицами женского пола (76%). С учетом тяжести проявления ХВН все больные были разделены на 3 группы. В 1-ю группу были включены 52 пациента с ВРВНК, клиническая картина у которых соответствовала II классу проявления заболевания (С2), согласно международной классификации СЕАР. Вторую группу составили 46 больных, у которых помимо варикозного расширения вен наблюдался отек дистальных отделов конечности (С3). В 3-ю группу включено 11 больных ВРВНК с гиперпигментацией кожи и/или липодерматосклерозом в зоне медиальной лодыжки (С4).

Исследуемым больным, помимо общепринятого клинического обследования, для изучения регионарного венозного кровообращения выполнялось ультразвуковое дуплексное сканирование с цветным доплеровским картированием на универсальной экспертной ультразвуковой системе «Symbion Five, Logec Book» (General Electric, США), в режимах «B-flow» и «Angio-flow» (датчики частотой 5,0 и 7,5 МГц).

Всем пациентам было проведено хирургическое вмешательство в виде классической флебэктомии, в ходе которой осуществлялся забор фрагментов в проксимальном и дистальном сегменте большой подкожной вены (длиной до 2 см) для последующего изучения ее морфофункциональных свойств.

Изучение сократительной способности изолированных фрагментов ствола БПВ проводилось на биологической установке Ugo Basile (Италия) (модель – 4050) с высокочувствительным датчиком напряжения (модель – 7010). Фрагменты вен фиксировали на специальные держалки, погружали в рабочую камеру и крепили к датчику. Перфузия препаратов вен на протяжении всего эксперимента осуществлялась раствором Кребса – Хенселейта при температуре $38 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Скорость перфузии составляла 0,7 мл/мин, аэрация рабочей камеры карбогеном осуществлялась пассивно. Вазоактивные вещества, использовавшиеся в эксперименте, добавляли в перфузион-

ный раствор до требуемой концентрации, а время их экспозиции составляло от 10 мин до 2 ч.

Подготовка препаратов для гистологического исследования осуществлялась в соответствии со стандартными протоколами уплотнения и обезвоживания тканей сегментов вен на аппарате Thermo Scientific STP 120 с последующей заливкой в парафин и приготовлением срезов на микротоме HN 325. Визуальное изучение срезов проводилось при помощи микроскопа Micros MC 20 (Австрия). Патологические изменения в исследуемых сосудах оценивались полуколичественным методом по степени их выраженности (слабо, умеренно или резко выраженные изменения).

Статистическая обработка материала осуществлялась с помощью пакета программ RAR Statistica 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование изолированных фрагментов БПВ на физиологической установке показало, что все биоптаты обладали спонтанной сократительной активностью, были зарегистрированы базальный тонус венозной полоски и ее фазные сокращения регулярного характера с частотой от 16 до 32 сокращений в мин. Сохранение сократительной активности в изолированном (денервированном) препарате свидетельствовало об определенной сохранности гладкомышечных элементов в стенке БПВ при ВРВНК. Однако биомеханические свойства изучаемых фрагментов БПВ зависели от выраженности проявлений ВРВНК. Наибольшей сократительной активностью и эластичностью обладали биоптаты 1-й группы больных (базальный тонус составил от 0,8 до 1 г, амплитуда фазных сокращений от 0,018 до 0,24 г, частота фазных сокращений от 20 до 26 в минуту). Величина базального тонуса стенки БПВ у больных 3-й группы была в 2,5 раза ниже (0,31 до 0,36 г), а амплитуда фазных сокращений – 1,5 раза (0,1 – 0,14 г) по сравнению с показателями 1-й группы больных ($P < 0,05$). Показатели сократительной активности биоптатов 2-й группы больных были вариabельными и не имели статистически достоверных различий с показателями и 1-й, и 3-й групп больных.

Сопоставление данных, полученных в ходе изучения сократительной активности венозных биоптатов, с изменениями выявленными при гистологическом исследовании стенки БПВ позволили выявить ряд закономерностей. Значительные изменения сократительной способности стенки вены, выявленные у больных 3-й группы, связаны с дегенеративно-дистрофическими процессами, происходящими в стенке вены при декомпенсации венозного кровообращения, что сопровождается выраженной дилатацией ствола БПВ и фибросклерозом. Более

выраженные морфофункциональные изменения в биоптате из проксимального отдела вены лишний раз подтверждают концепцию о ведущей роли недостаточности остиального клапана в патогенезе ВРВНК.

Для подтверждения флеботонизирующего эффекта МОФФ и некоторых механизмов ее действия была проведена серия экспериментов. После регистрации фоновой сократительной активности венозного биоптата 1-й группы больных (рис. 1) в перфузионный раствор добавлялся МОФФ в суточной дозировке (1000 мг), что соответствовало концентрации 0,1 мг МОФФ в 1 мл перфузата. В течение первых 60 с наблюдалось резкое повышение

уровня базального тонуса на 30–50% и увеличение амплитуды фазных сокращений. После добавления в омывающий раствор хлорида калия (50 ммоль), (ионы калия являются классическим деполяризирующим препаратом для мембран гладкомышечных клеток и в высокой концентрации тормозят сократительный ответ) уменьшалась частота сокращений, угнетались тонический и фазный компоненты до появления участка в виде ровного плато (отсутствие сокращений). В ответ на повторное введение в перфузионный раствор МОФФ в той же концентрации наблюдались синхронизация сокращений и нормализация тонуса венозной стенки.

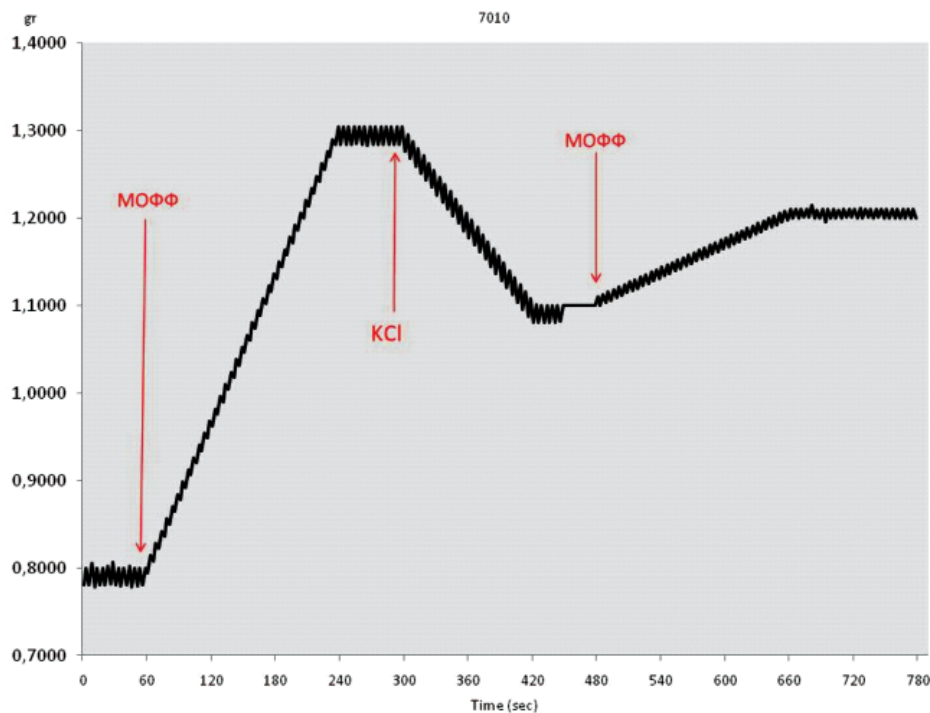


Рис. 1. Изучение моторики биоптата продольной полоски БПВ на фоне действия 50 ммоль хлорида калия и омывания раствором МОФФ. По оси абсцисс: сила сокращения (г), по оси ординат – время (с)

В дальнейшем было изучено воздействие МОФФ на стенку вены после экспозиции ее в растворе Кребса – Хенселейта без содержания ионов кальция (ионы кальция играют роль каплинг-механизма в реализации контрактильного акта) (рис. 2). В этих условиях наблюдалось резкое снижение фоновой сократительной активности стенки вены более чем в 3 раза. Введение МОФФ в омывающий безкальциевый раствор приводило к резкому повышению тонического сокращения стенки вены с малым латентным периодом. При этом было зарегистрировано и повышение частоты фазных сокращений до $30 \pm 0,5$ в мин ($p < 0,05$).

Примечательно, что при достижении максимальных значений базального тонуса сохранялась фазная СА близкая к исходной. В дальнейшем фоновая сократительная активность длительное время оставалась на стабильно высоком уровне.

При проведении аналогичной серии экспериментов с фрагментами вен, взятых у больных 2-й и 3-й групп, общая закономерность реакции на вазоактивные препараты сохранялась, но при этом уровень базального тонуса и амплитуда фазных сокращений были существенно ниже. Сократительные ответы фрагментов вен из дистального отдела БПВ были

неизменно более выраженными по сравнению с биоптатами из проксимальных отделов вен.

Проведенная серия экспериментов на изолированных фрагментах вен позволила сделать некоторые дополнения к механизму действия МОФФ. Обладая выраженным флеботонизирующим действием, МОФФ не изменяет электрогенные свойства мембраны гладкомышечных клеток венозной стен-

ки и реализует свое контрактильное воздействие за счет миграции ионов кальция из внутриклеточного депо.

Выраженный флеботонизирующий эффект МОФФ, по данным нашего экспериментального исследования, позволяет рекомендовать их к применению при лечении больных ВРВНК на всех стадиях ХВН, особенно если учитывать и другие свойства этого препарата.

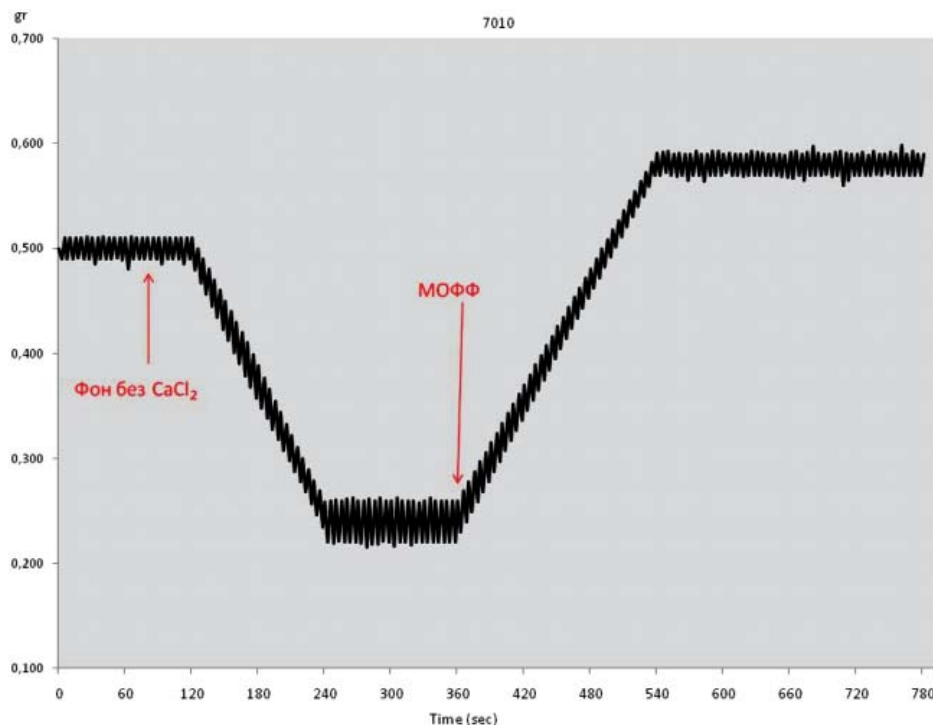


Рис. 2. Изменения сократительной активности продольной полоски БПВ при экспозиции в бескальциевом растворе и под воздействием раствора МОФФ. По оси абсцисс сила сокращения (г), по оси ординат — время (с)

Выводы

1. Стенка БПВ человека обладает спонтанной сократительной активностью, играющей роль микронасоса, что является важным компонентом в обеспечении венозного кровотока.

2. По мере развития и прогрессирования ВРВНК вследствие дегенеративно-дистрофических процессов происходящих в венозной стенке возникает частичное замещение гладкомышечного компонента соединительной тканью (флебосклероз), что в значительной мере ухудшает биомеханические свойства БПВ.

3. МОФФ является эффективным флеботонизирующим препаратом, реализующим свои контрактильные свойства даже в условиях денервированного препарата.

Список литературы

1. Богачев В.Ю. Биофлавоноиды и их значение в ангиологии. Фокус на диосмин / В.Ю. Богачев, О.В. Голованова, А.Н. Кузнецов, А.О. Шекоян // Ангиология и сосуд. хир. – 2013. – № 1. – С. 73–80.
2. Игнатъев И.М. Значение венозного тонуса в диагностике варикозной болезни / И.М. Игнатъев, Р.А. Бредихин, С.Ю. Ахунова // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2002. – № 4. – С. 76–81.
3. Кириенко А.И. Компрессионная склеротерапия (практическое руководство для врачей) / А.И. Кириенко, В.Ю. Богачев, И.А. Золотухин. – М.: Изд-во НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2004. – 40 с.
4. Кириенко А.И. Фармакотерапия хронической венозной недостаточности нижних конечностей / А.И. Кириенко, Р.А. Григорян, В.Ю. Богачев, Л.И. Богданец // Consilium medicum. – 2000. – Прил. 1. – С. 16–22.
5. Константинова Г.Д. Практикум по лечению варикозной болезни / Г.Д. Константинова, П.К. Воскресенский, О.В. Гордина и др. / под ред. Г.Д. Константиновой. – М.: Профиль, 2006. – 188 с.

6. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен, основанные на принципах доказательной медицины Флебология. – 2013. – Т. 7. – № 2. – С. 28–32.

7. Бредихин Р.А. Варикозная болезнь. Современный взгляд на проблему / Р.А. Бредихин, И.М. Игнат'ев // Вестник МКДЦ. – 2002. – Т. 1. – № 1 – С. 100–106.

8. 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). – P. 71–100.

9. Kurz X. Chronic venous disorders of the leg: epidemiology, outcomes, diagnosis and management. Venous Insufficiency Epidemiologic and Economic Studies / X. Kurz, S.R. Kahn, L. Abenheim // Int. Angiol. – 1999. – Vol. 18(2). – P. 83–102.

10. Nicolaides A.N. Management of chronic venous disorders of the lower limbs: guidelines according to scientific evidence / A.N. Nicolaides, C. Allegra, J. Bergan et al. // Int Angiol. – 2008 Feb. – № 27(1). – P. 1–59.

References

1. Bogachev V.Ju. Bioflavonoidy i ih znachenie v angiologii. Fokus na diosmin / V.Ju. Bogachev, O.V. Golovanova, A.N. Kuznecov, A.O. Shekojan // Angiologija i sosud. hir. 2013. no. 1. pp. 73–80.

2. Ignat'ev I.M. Znachenie venoznogo tonusa v diagnostike varikoznoj bolezni / I.M. Ignat'ev, R.A. Bredihin, S.Ju. Ahunova // Ul'trazvukovaja i funkcional'naja diagnostika. 2002. no. 4. pp. 76–81.

3. Kirienko A.I. KompriSSIONnaja skleroterapija (prakticheskoe rukovodstvo dlja vrachej) / A.I. Kirienko, V.Ju. Bogachev, I.A. Zolotuhin. Izd-vo NCSSH im. A.N. Bakuleva RAMN, 2004. 40 p.

4. Kirienko A.I. Farmakoterapija hronicheskoi venoznoj nedostatocnosti nizhnih konechnostej / A.I. Kirienko, R.A. Grigorjan, V.Ju. Bogachev, L.I. Bogdanec // Consilium medicum. 2000. Pril. 1. pp. 16–22.

5. Konstantinova G.D. (red.) Praktikum po lecheniju varikoznoj bolezni / G.D. Konstantinova, P.K. Voskresenskij, O.V. Gordina i dr. / Pod red. G.D. Konstantinovej. M.: Profil', 2006. 188 p.

6. Rossijskie klinicheskie rekomendacii po diagnostike i lecheniju hronicheskikh zaboolevanij ven, osnovannye na principah dokazatel'noj mediciny Flebologija. 2013. Tom 7. no. 2. pp. 28–32.

7. Bredihin R.A. Varikoznaja bolezni'. Sovremennyj vzgljad na problemu / R.A. Bredihin, I.M. Ignat'ev // Vestnik MKDC. 2002. T.1. no. 1 pp. 100–106.

8. 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.

9. Kurz X. Chronic venous disorders of the leg: epidemiology, outcomes, diagnosis and management. Venous Insufficiency Epidemiologic and Economic Studies / X. Kurz, S.R. Kahn, L. Abenheim // Int. Angiol. 1999. Vol. 18(2). P. 83–102.

10. Nicolaides A.N. Management of chronic venous disorders of the lower limbs: guidelines according to scientific evidence / A.N. Nicolaides, C. Allegra, J. Bergan et al. // Int Angiol. 2008 Feb;27(1):1–59.

Рецензенты:

Сорока В.В., д.м.н., профессор, руководитель отдела неотложной сердечно-сосудистой хирургии СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, г. Санкт-Петербург;

Горбунов Г.Н., д.м.н., профессор, и.о зав. кафедрой сердечно-сосудистой хирургии ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург.

Работа поступила в редакцию 18.04.2014.