

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
БЕЛГОРОДСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

*На правах рукописи*

**ШАМАРАЕВА  
Инна Владимировна**

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ СОВРЕМЕННЫХ ВЕНОТОНИКОВ  
В КОРРЕКЦИИ ПОЛИМОРБИДНЫХ СОСТОЯНИЙ  
У ЛЮДЕЙ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА**

**14.01.30 - геронтология и гериатрия**

**Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

Научные руководители:  
доктор медицинских наук, профессор  
Прощаев Кирилл Иванович,  
доктор биологических наук, профессор  
Кветная Татьяна Викторовна

**Белгород – 2017**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
Глава 1. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРЕПАРАТА МИКРОНИЗИ- РОВАННОЙ ОЧИЩЕННОЙ ФЛАВОНОИДНОЙ ФРАКЦИИ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН .....	12
1.1. Общие представления о флавоноидах.....	12
1.2. Фармакопейная характеристика диосмина, гесперидина и микронизи- рованной очищенной фракции диосмин + гесперидин.....	17
1.3. Биологические эффекты МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН при лечении различных заболеваний.....	20
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	28
2.1. Клиническая характеристика пациентов.....	28
2.2. Определение в сыворотке крови уровня цитокинов.....	30
2.3. Биохимические исследования.....	31
2.4. Компьютерное прогнозирование биологической активности веществ с использованием методов виртуальной хемогеномики.....	32
2.5. Статистическая обработка результатов.....	33
Глава 3. НЕЙРОИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ФАРМАКОТЕРАПИИ МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН ПРИ ПОЛИМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИИ.....	34
Глава 4. ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОТЕРАПИИ МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН НА УРОВЕНЬ ИММУНОРЕАКТИВНОГО ИНСУЛИНА И УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН ПРИ ХВН И СД 2 ТИПА.....	70

Глава 5. ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОТЕРАПИИ МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ХВН И СД 2 ТИПА.....	79
Глава 6. КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ ВОЗМОЖНЫХ ПЛЕЙОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ ФАРМАКОТЕРАПИИ ХВН И СД 2 ТИПА ПРЕПАРАТОМ МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН МЕТОДАМИ ВИРТУАЛЬНОЙ ХЕМОГЕНОМИКИ.....	85
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	89
ВЫВОДЫ.....	91
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	94
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	95
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	96

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность темы**

В XX веке средняя продолжительность жизни людей увеличилась до 66 лет. Согласно прогнозам ООН среднее число пожилых людей в возрасте старше 60 лет с 600 млн. человек в 2000 году увеличится до 2 млрд. к 2050 году. Такая же тенденция наблюдается и в Российской Федерации, при этом сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смертности населения, составляя 57% от общей смертности. Хроническая венозная недостаточность нижних конечностей (ХВН) является самой распространенной патологией сосудистой системы. В возрастной группе 55-64 года это заболевание находят у 56% человек, у 75% пациентов заболевание сопровождается отеком, у 20% пациентов в возрасте старше 70 лет отмечаются трофические нарушения [Onida S. et al., 2015].

Основными проблемами гериатрической практики являются полиморбидность и полипрагмазия. Возраст 61-75 лет характеризуется ярким проявлением всех накопленных заболеваний. По данным российских ученых, на пациента в возрасте 60 лет в среднем приходится 5,1 заболевания [Лазебник Л.Б., 2007]. Для пациентов пожилого возраста с ХВН характерно наличие сопутствующего атеросклеротического поражения сосудов, ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, сахарного диабета, ассоциированного с болезнями глаз и почек [Прощаев К.И., Ильницкий А.Н., 2008]. По данным исследований, среднее количество препаратов, принимаемых пожилым больным, как по назначению, так и самостоятельно, достигает 10,5. Поэтому, в настоящее время особенно актуальной становится проблема изучения плеiotропных эффектов лекарственных средств. В контексте изучения патологии вен нижних конечностей в пожилом возрасте особый интерес представляет исследование плеiotропного действия венотоников при сочетании хронической венозной недостаточности с

сахарным диабетом второго типа. Данный вариант полиморбидности является часто встречающимся и характеризуется серьёзным взаимным отягощением его составляющих, и в то же время на сегодняшний день патофизиологические и фармакотерапевтические его аспекты остаются малоизученными [Литынский А.В. и соавт., 2014].

Препараты на основе микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин используются для лечения пациентов с хроническими заболеваниями вен, обладают наибольшей доказательной базой, включены в Российские и Международные рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен [Pokrovsky A.V. et al., 2007]. Наличие у микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин феномена плейотропности, который мало изучен в отношении людей старших возрастных групп, обусловило актуальность проведенного диссертационного исследования, предопределило его цель и задачи.

### **Цель исследования**

Исследовать биологические плейотропные эффекты микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин с учетом феномена полиморбидности в пожилом возрасте для разработки путей оптимизации фармакотерапии.

### **Задачи исследования**

1. Изучить состояние нейроиммуноэндокринной системы у пожилых людей с хронической венозной недостаточностью и при синдроме полиморбидности в виде ассоциации хронической венозной недостаточности и сахарного диабета второго типа.

2. Дать оценку особенностям изменения цитокиновой системы при проведении флеботропной терапии микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин у пожилых людей с хронической венозной недостаточностью и при синдроме полиморбидности в

виде ассоциации хронической венозной недостаточности и сахарного диабета второго типа.

3. Изучить особенности реагирования инсулин-углеводной систем при проведении флеботропной терапии микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин у пожилых людей.

4. Определить динамику изменений в системе перекисного окисления липидов при проведении флеботропной терапии микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин в пожилом возрасте.

5. Разработать пути оптимизации фармакологической нагрузки на пациентов старших возрастных групп с учетом выявленных протективных биологических плейотропных эффектов микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин.

### **Научная новизна работы**

Впервые проведено комплексное изучение нейроиммуно-эндокринного статуса пожилых людей с диагнозом хронической венозной недостаточности и сопутствующей эндокринной патологией в виде сахарного диабета второго типа при использовании микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин.

Впервые количественно доказано, что фармакотерапия в течение 30 суток препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин высоко эффективна в подавлении процесса перекисного окисления липидов, что подтверждается достоверным снижением уровня малонового диальдегида в сыворотке крови по сравнению с уровнем до начала терапии до показателей, характерных для людей с факторами риска этих заболеваний.

Впервые обнаружены плейотропные протективные эффекты микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин на систему цитокинового и интерлейкинового обмена,

выражающиеся во влиянии на увеличение уровня интерлейкинов IL-4, IL-10 в сыворотке крови пожилых людей, являющихся противовоспалительными факторами, и уменьшении уровня фактора некроза опухолей альфа, интерлейкинов IL-6, IL-8 являющихся провоспалительными факторами.

Впервые с использованием прогнозирования методами виртуальной хемогеномики подтверждена высокая биологическая активность микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин в подавлении иммунного воспаления и эффективность при лечении хронической венозной недостаточности в пожилом возрасте в сочетании с сахарным диабетом второго типа.

Впервые предложено использовать плеiotропные эффекты фармакотерапии препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин для снижения фармакологической нагрузки на организм пожилых больных, страдающих хронической венозной недостаточностью как компонента полиморбидной патологии, и повышения эффективности проводимой параллельно противовоспалительной, сахаронормализующей фармакотерапии и фармакотерапии, направленной на подавление процесса перекисного окисления липидов.

### **Практическая значимость**

Результаты исследования определяют направления коррекции протоколов назначения препаратов микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин пациентам старших возрастных групп. В частности, полученные данные о состоянии нейроиммуноэндокринной системы, цитокинового статуса хронической венозной недостаточности и при ее сочетании с сахарным диабетом второго типа, плеiotропных эффектах фармакотерапии микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин у больных пожилого возраста могут использоваться в гериатрической практике для

прогнозирования эффективности лечебных мероприятий и выбору наиболее оптимальных вариантов фармакотерапии.

Внедрение результатов диссертационного исследования в практическое здравоохранение даст возможность повысить качество проведения фармакотерапии препаратами микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин, добиться максимальной реализации плеiotропных эффектов, снизить уровень полипрагмазии и повысить качество жизни пациентов старших возрастных групп.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Оценка уровней концентрации фактора некроза опухолей альфа, интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 в сыворотке крови больных пожилого возраста при хронической венозной недостаточности и хронической венозной недостаточности в сочетании с сахарным диабетом второго типа могут служить дополнительными индикаторами характера воспалительного процесса.

2. Фармакотерапия препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин при хронической венозной недостаточности в течении тридцати суток приводит к возвращению концентрации уровня фактора некроза опухолей альфа и провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у людей среднего возраста к значениями до начала терапии, а у людей пожилого возраста – к их достоверному существенному снижению.

3. Применение препарата микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин в течении тридцати суток приводит к достоверной активации противовоспалительного звена иммунной системы организма, о чем свидетельствует увеличение концентрации интерлейкинов IL-4 и IL-10 в сыворотке крови как у пожилых людей, страдающих хронической венозной недостаточностью, так хронической венозной недостаточностью в сочетании с сахарным диабетом второго типа.



4. Фармакотерапия препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин потенцирует нормализацию гликемического профиля при проводимой параллельно сахароснижающей терапии, что выражается в достоверном снижении уровня глюкозы в сыворотке крови людей, страдающих хронической венозной недостаточностью в сочетании с сахарным диабетом второго типа.

5. Препараты микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин высокоэффективны в подавлении процессов перекисного окисления липидов людей, страдающих хронической венозной недостаточности в сочетании с сахарным диабетом второго типа не только в среднем, но и в пожилом возрасте, что выражается в нормализации концентрации малонового диальдегида в сыворотке крови до уровня людей с факторами риска этих заболеваний.

#### **Связь с научно-исследовательской работой Института**

Диссертационная работа является научной темой, выполняемой по основному плану НИР ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

#### **Апробация и реализация результатов диссертации**

Результаты исследований, включенных в диссертацию, доложены и обсуждены на следующих научных съездах, конференциях, симпозиумах, совещаниях: на конференции «Актуальные вопросы поликлинической практики» (Новополоцк, 2009); на конференции «Ассоциированные с возрастом заболевания в клинической практике» (Минск, 2011); на международной конференции «Геронтологические чтения 2012» (Белгород, 2012), III Съезде геронтологов и гериатров России (Новосибирск, 2012), Научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы геронтологии и гериатрии», посвященной памяти акад. В.В. Фролькиса (Киев, 2013), Национальном конгрессе «Клиническая фармация: 20 лет в Украине» (Харьков, 2013), Научно-практической

конференции с международным участием «Общетерапевтическая практика: новые технологии и междисциплинарные вопросы» (Харьков, 2013), I Международной научно-практической конференции «Фармакология, фармацевтическая технология и фармакотерапия в обеспечении активного долголетия» (Киев, 2013), II Международной научно-практической интернет-конференции «Технологические и биофармацевтические аспекты создания лекарственных препаратов разной направленности действия» (Харьков, 2015), II International Scientific Conference «Pharmacology, Pharmaceutical Technology and Pharmacotherapy in Active Longevity» (Vilnius, 2015).

Результаты исследования используются в практической деятельности Белгородской городской клинической больницы №1, Белгородских городских поликлиник №№ 1 и 6, многопрофильного медицинского центра «Поколение» (г. Белгород), многопрофильного медицинского центра «Ваша клиника» (г. Москва), в учебно-педагогическом процессе медицинского факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета, кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины института повышения квалификации ФМБА России (г. Москва), факультета химических и биофармацевтических технологий Киевского национального университета технологий и дизайна.

#### **Личный вклад автора**

Автором лично определены цель и задачи исследования, проанализирована отечественная и зарубежная литература по изучаемой проблеме, разработаны методические подходы к проведению исследования. Автор непосредственно производила сбор данных, обработку и обобщение полученных материалов, подготовку основных публикаций по выполненной работе, написание и оформление рукописи. Личный вклад автора составляет 80%.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 14 работ, в т.ч. 5 статей в научных журналах из перечня ВАК Минобра РФ, 2 статьи в другом рецензируемом научном журнале, 7 тезисов докладов.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из оглавления, введения, общей характеристики работы, основной части, состоящей из шести глав, выводов, практических рекомендаций, списка использованных источников. Работа представлена на 110 страницах, содержит 18 таблиц, 20 рисунков и список использованной литературы, включающий 120 источников (в т.ч. 60 на иностранных языках).

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### Глава 1.

#### БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРЕПАРАТА МИКРОНИЗИРОВАННОЙ ОЧИЩЕННОЙ ФЛАВОНОИДНОЙ ФРАКЦИИ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН

##### 1.1. Общие представления о флавоноидах

Флавоноиды представляют собой обширную группу гидрофильных и липофильных природных гетероциклических кислородсодержащих соединений. Все флавоноиды имеют преимущественно желтое, оранжевое или красное окрашивание. Все флавоноиды подразделяют на несколько групп: катехины, антоцианы и лейкоантоцианы, производные флавона, изофлавона, а также халконы и дигидрохалконы. К настоящему времени из природного сырья выделено и охарактеризовано более 6500 флавоноидов. Большинство флавоноидов по сути являются растительными пигментами, которые окрашивают ткани растений в соответствующий цвет. Известно, что антоцианы окрашивают различные части растений в цветовую гамму от розового до черно-фиолетового цвета, а флавоны, флавононы, ауроны и халконы - в желто-оранжевые тона [Богачев В.Ю. и соавт., 2013].

Флавоноиды, возможно, существовали в природе на протяжении миллиарда лет и, таким образом, взаимодействовали с развивающимися организмами. Очевидно, что флавоноиды выполняют важную роль в природе, поскольку сохранились в растениях на всех этапах эволюции [Swain T., 1975]. Длительным эволюционным взаимодействием растительных флавоноидов с

различными видами животных и других организмов в ходе эволюции можно объяснить экстраординарный диапазон биохимических и фармакологических эффектов этих химических веществ у млекопитающих и в других биологических системах. Уникальны примеры ингибирования слияния мембран гамет у морских ежей, вызванных кверцетином при оплодотворении яйцеклетки [Eckberg W.R. et al., 1983] и модуляция подвижности сперматозоидов у млекопитающих путем воздействия кверцетина [Nass-Arden L. et al., 1990]. Кроме того, пренатальное воздействие генистеина влияет на сексуальную дифференциацию у крыс [Levy R. et al., 1995]. Это позволяет предположить подобный эффект и в организме человека.

Флавоноиды играют важную роль в физиологии и биохимии растений, действуя как антиоксиданты, ингибиторы ферментов, предшественники токсичных веществ и пигменты [McClure J.W., 1986]. Кроме того, эти соединения участвуют в фотосенсибилизации и передаче энергии, действуют как гормоны роста и регуляторы роста, контролируют клеточное дыхание, фотосинтез, морфогенез и определение пола, а также защиту от инфекции [Smith D.A. et al., 1986].

Исследования показывают, что растительные флавоноиды способны вызвать активацию модуляции бактериального генома, участвующего в контроле фиксации азота, что по сути предполагает существенные корреляции между конкретными флавоноидами и активацией экспрессии генов млекопитающих [Firmin J.L. et al., 1986; Peters N.K. et al., 1986; Djordjevic M.A. et al., 1987].

Сегодня установлено, что флавоноиды обладают противовоспалительными, антиоксидантными, противоаллергическими, гепатопротекторными, антитромботическими, противовирусными и антиканцерогенными свойствами, которые мы рассмотрим далее [Havsteen B., 1984; Middleton E. et al., 1992; Hertog M.G.L. et al., 1992]. По сути многочисленные плеiotропные эффекты биологического воздействия

флавоноидов в живых организмах изучаются и документируются на протяжении многих лет, однако фармакопейное использование флавоноидов как активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) до сих пор ограничено всего несколькими терапевтическими направлениями.

Флавоноиды являются типичными фенольными соединениями и, следовательно, могут выступать в качестве мощных хелатирующих агентов для металлов и свободных радикалов [Clemetson C.A.V., 1989; Kandaswami S. et al., 1994]. Они же являются мощными антиоксидантами.

Ранее было показано, что смесь двух флавоноидов, называемых цитрином и гесперидином, проявляет витаминподобную активность. Термин «витамин Р» был введен в фармацевтическую литературу для обозначения этой смеси, которая имела свойство уменьшения проницаемости и хрупкости капилляров, продлевая жизнь у цинготных морских свинок и уменьшая признаки гиповитаминоза С у экспериментальных животных. Хотя так называемый витамин Р, как в конечном счете было показано, не выполняет функции витамина и от термина отказались, этот факт свидетельствует о том, что флавоноиды являются мощными антиоксидантами и проявляют активность как протекторы витамина С [Clemetson C.A.V., 1989].

В настоящее время основная часть флавоноидов рассматривается как вторичные несущественные диетические факторы без какого-либо документально зафиксированного отношения к здоровью или болезням человека. Однако исследования последних десятилетий, в которых доказаны многочисленные плейотропные, потенциально здоровьесберегающие эффекты флавоноидов в профилактике болезней человека позволяют по-новому взглянуть на роль этих биологических молекул и открывают перспективы для изучения флавоноидов как потенциальных АФИ с комплексом полезных биологически значимых свойств.

Кроме того, некоторые флавоноиды проявляют заметные противораковые свойства [Hertog M. G. L. et al., 1992, 1993, 1995]. В тоже время нет достоверных данных о канцерогенном потенциале флавоноидов у экспериментальных животных [Aeschbacher H.-U. et al., 1982].

Потенциально большое значение имеет установление факта наличия кверцетина в ткани сетчатки крупного рогатого скота [Pautler E.L. et al., 1986]. Это свидетельствует о том, что поглощаемые с пищей флавоноиды способны накапливаться в тканях живого организма и, по-видимому, модулировать функции этих тканей.

В последние годы одним из основных факторов увеличения интереса к неописанным свойствам флавоноидов стал тот факт, что во многих фармакопейных лекарственных препаратах, приготовленных из растительного сырья, основными АФИ являются флавоноиды. Например, профиль АФИ в экстракте гинкго билоба показывает, что флавоноиды являются основными его компонентами [Kleinjnen J. et al., 1992].

Среди клинических эффектов биофлавоноидов выделяются капилляропротективное и кардиотропное действие, некоторые из них являются спазмолитиками и гипотензивными средствами. Ряд флавоноидов обладает антибактериальной и противовоспалительной активностью. Существенным является и тот факт, что биофлавоноиды не проявляют кумулятивного или токсического действия и даже в очень больших дозах не вызывают каких-либо отрицательных реакций, лишь иногда вызывая снижение артериального давления [Яковлева Г.П. и соавт., 1996; Виноградова Т.А. и соавт., 2001; Коноплева М.М., 2002]. Основным наиболее изученным и, соответственно, используемым в клинической практике эффектом флавоноидов является капилляропротективный эффект и снижение проницаемости сосудистой стенки. Большие дозы флавоноидов используют для лечения геморрагических диатезов, капилляротоксикозов, последствий лучевой болезни, маточных, геморроидальных и желудочно-кишечных

кровотечений, предупреждения офтальмологических осложнений сахарного диабета (диабетической ретинопатии, кровоизлияния в стекловидное тело, тромбоза центральной вены сетчатки и др.) [Богачев В.Ю. и соавт., 2013].

Флавоноиды используют для нормализации уровня холестерина при лечении атеросклероза и метаболического синдрома, для повышения устойчивости к физическим нагрузкам, для снижения летальности при острых сердечно-сосудистых заболеваниях [Виноградова Т.А. и соавт., 2001; Коноплева М.М., 2002].

Наибольшее применение в клинической медицинской практике флавоноиды в последнее десятилетие нашли в ангиологии для профилактики и лечения хронических заболеваний вен. Клиническим флеботропным эффектом флавоноидов является способность уменьшать выраженность симптомов, и, в первую очередь, отека, обусловленных хронической венозной недостаточностью (ХВН), а также специфического болевого синдрома [Goldman M. et al., 2011; Ramelet A.-A. et al., 2005a, 2005b].

Механизм флеботропного действия флавоноидов связывают с увеличением венозного тонуса за счет нормализации тока крови за счет снижения агрегации эритроцитов улучшения снабжения кислородом эндотелиоцитов, со снижением отечности тканей за счет нормализации проницаемости капилляров и повышения лимфодренажа, с подавлением адгезии лейкоцитов к эндотелию, улучшением реологических свойств крови и усилением фибринолиза [Богачев В.Ю. и соавт., 2013].

Одними из наиболее изученных к настоящему времени флавоноидов являются диосмин и гесперидин. Эти соединения оказывают прямое венотонизирующее действие [Goldman M. et al., 2011; Ramelet A.-A. et al., 2005a, 2005b; Bergan J. et al., 2006]. Многочисленные исследования показывают, что биологические эффекты этих соединений не просто многочисленны, но позволяют говорить о новых возможностях для практического терапевтического применения, особенно в случае



полиморбидных патологических состояний, характерных для людей пожилого и старческого возраста.

## 1.2. Фармакопейная характеристика диосмина, гесперидина и микронизированной очищенной фракции диосмин + гесперидин

### Гесперидин (Hesperidin).

Гликозид флавонона гесперитина.

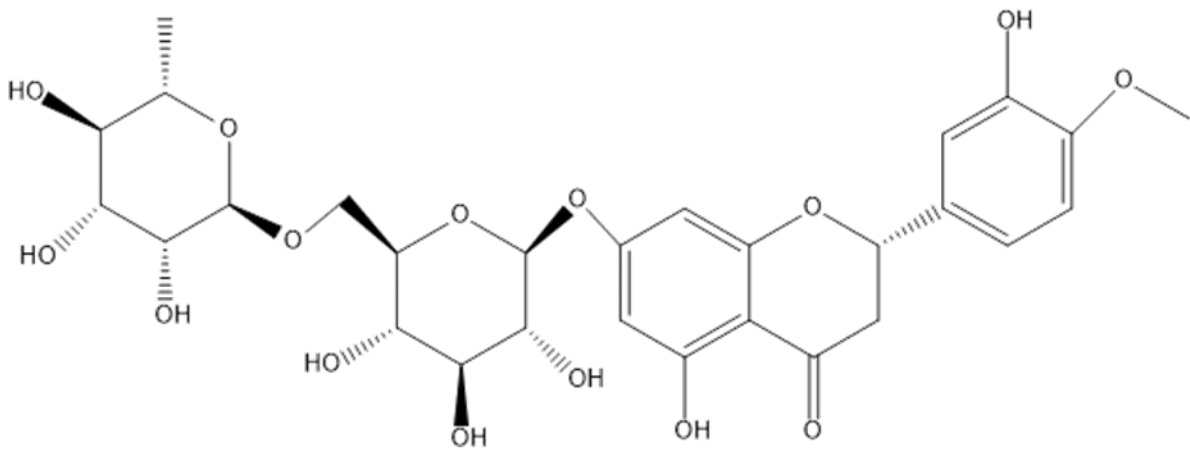


Рисунок 1.1. Структурная формула гесперидина.

Русское название вещества: гесперидин.

Латинское название вещества: Hesperidinum (род. Hesperidini).

Брутто-формула: C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>O<sub>15</sub>.

Фармакологическая группа вещества:

Ангиопротекторы и корректоры микроциркуляции

Код CAS: 520-26-3 [RLSNET.RU, 2014].

Фармакология:

Фармакологическое действие - венотонизирующее, ангиопротективное, венопротективное.

### Диосмин (Diosmin).

Гликозид флавона диосметина.

Получают путем экстракции из цедры citrusовых, бобовых и цветов мелкозернистой софоры или синтетически из гесперидина.

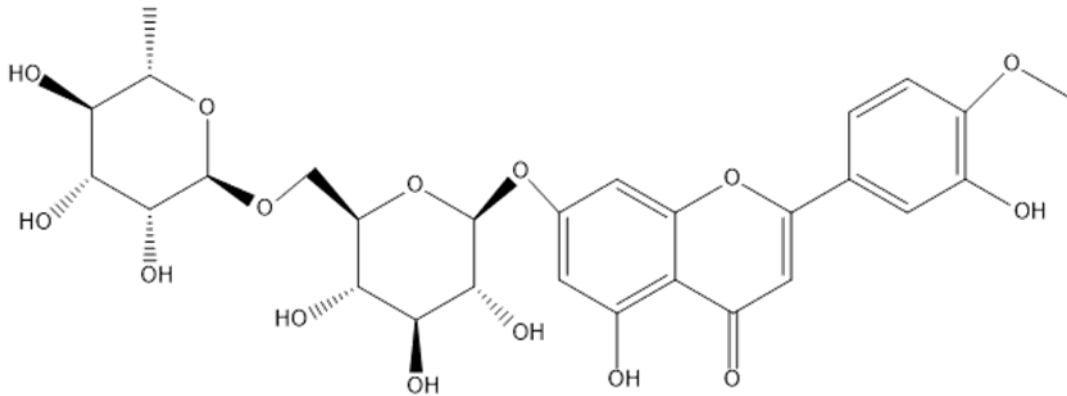


Рисунок 1.2. Структурная формула диосмина.

Русское название вещества: диосмин.

Латинское название вещества: Diosminum (род. Diosmini).

Химическое название:

7-[[6-О-(6-Дезокси-альфа-L-маннопиранозил)-бета-D-глюкопиранозил]окси]-5-гидрокси-2-(3-гидрокси-4-метоксифенил)-4Н-1-бензопиран-4-он

Брутто-формула: C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>15</sub>

Фармакологическая группа вещества:

Ангиопротекторы и корректоры микроциркуляции.

Нозологическая классификация (МКБ-10):

I83 Варикозное расширение вен нижних конечностей.

I84 Геморрой.

I87.2 Венозная недостаточность (хроническая) (периферическая).

I99 Другие и неуточненные нарушения системы кровообращения.

Код CAS: 520-27-4 [RLSNET.RU, 2014].

Фармакология:

Фармакологическое действие - венотонизирующее, ангиопротективное, венопротективное.

Флавоноиды гесперидин и диосмин являются активными компонентами многих венотонизирующих фармацевтических препаратов (Детралекс<sup>®</sup>, Флебодиа 600мг<sup>®</sup>, Диофлан<sup>®</sup>, Вазокет 600<sup>®</sup> и других).

Биодоступность диосмина повышают за счет ультразвуковой или плазменной микронизации, в результате которой частицы с 60 мкм размельчаются до 2 мкм. Благодаря микронизации, абсорбция диосмина в желудочно-кишечном тракте увеличивается с 32 до 58% [Hollman P.C.H., 2004].

Наиболее активной и эффективной в качестве АФИ считается микронизированная очищенная фракция (МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН), которая на 90 % состоит из диосмина и на 10 % - из сложной комбинации других флавоноидов, активность которых пересчитывают на гесперидин (диосмин, гесперидин, изороифолин, линарин и диосметин), которые демонстрируют флеботропную и эндотелиопротекторную активность и действуют синергично. Именно МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН является активной составляющей препарата Детралекс<sup>®</sup> (Сервье, Франция). Сложный состав МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН связан как с растительным источником получения гесперидина, так и с технологией его конвертации в диосмин с использованием высоковольтного электрического разряда.

### **1.3. Биологические эффекты МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН при лечении различных заболеваний**

#### **Применение МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности (ХВН).**

Большинство специалистов называют МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН «эталонным» флебопротектором, имея в виду многоцелевой механизм действия, удобство использования, высокую биодоступность и безопасность. Многочисленные исследования подтверждают высокую эффективность МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН при снижении отечности тканей и других симптомов болезни на всех стадиях ХВН [Pokrovsky A.V. et al., 2007].

Результаты российского многоцентрового исследования ДЕФАНС (Детралекс - оценка эффективности и безопасности при комбинированной флебэктомии) убедительно свидетельствуют о высокой эффективности МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в лечении варикозной болезни. Пациентам с варикозной болезнью назначался микронизированный диосмин (Детралекс) в дозировке 1000 мг в сутки за 2 недели до комбинированной флебэктомии. Прием препарата продолжался еще в течение 30 дней после оперативного вмешательства. Основная группа испытуемых составила 200 пациентов, которым произведена операция на одной нижней конечности. Контрольную группу составили 45 больных, не принимавших в до- и послеоперационном периоде Детралекс. На 7, 14 и 30 сутки после флебэктомии проводилась оценка выраженности болевого синдрома (с использованием 10-бальной визуальной аналоговой шкалы), тяжести, утомляемости конечности, размеров подкожных кровоизлияний в зоне удаления ствола большой подкожной вены на бедре. Отмечена значительно меньшая выраженность субъективных симптомов и подкожных

кровоизлияний среди пациентов, принимавших на протяжении исследования микронизированный диосмин. В основной группе болевой показатель на 7 сутки составил 2,9 балла, в контрольной -3,5. В этот же срок средний размер гематом у пациентов, принимавших Детралекс, составил 3,4 балла в сравнении с 4,6 у больных, не получавших фармакологическую поддержку. Схожие тенденции обнаружены при оценке тяжести и утомляемости, что свидетельствует о лучшей переносимости физических и ортостатических нагрузок в ближайшем послеоперационном периоде. При изучении качества жизни с помощью шкалы CIVIQ не выявлено достоверных различий показателей в группах, как до операции, так и на протяжении 4-х недель после нее. Сделан вывод, что микронизированный диосмин целесообразно использовать в процессе подготовки к операции и после вмешательства. Это позволяет существенно снизить выраженность болевого синдрома, уменьшить размеры послеоперационных гематом, ускорить процесс их резорбции, увеличить переносимость пациентами физических нагрузок в раннем послеоперационном периоде [Pokrovsky A.V. et al., 2007].

Описаны оценки клинической эффективности коагрегированного полусинтетического диосмина (Флебодиа 600) у больных с хронической венозной недостаточностью 2-3 классов по CEAP, вызванной варикозной болезнью вен нижних конечностей. На основании наблюдений за 30 пациентами показано положительное влияние препарата Флебодиа 600 на симптомы ХВН, отечный и судорожный синдромы. Сделан вывод о высокой эффективности и безопасности препарата при лечении ХВН [Кириенко А.И. и соавт., 2006].

Данные мета-анализа проведенных 5 крупных европейских исследований (N = 723) применения микронизированного диосмина у пациентов с венозными трофическими язвами (VI класс CEAP) свидетельствуют о статистически значимом клиническом эффекте микронизированного диосмина при лечении трофических язв среднего

размера (5-10 см<sup>2</sup>) при продолжительности их существования 6-12 мес. Полученные данные подтверждают необходимость и обоснованность использования поливалентных венотоников в комплексной терапии осложненных форм хронической венозной недостаточности [Савельев В.С. и соавт., 2006].

Результаты простого слепого рандомизированного плацебоконтролируемого исследования по оценке эффективности фармакотерапии в III триместре беременности с целью профилактики прогрессивного течения варикозной болезни вен малого таза у 30 женщин, получавших диосмин 600 мг, и у 60 беременных, получавших плацебо, показали, что однократный курсовой прием диосмина 600 мг в III триместре беременности улучшает в послеродовом периоде инволюцию основных венозных коллекторов и венозное дренирование органов малого таза, нормализует показатели физического и психического здоровья и их компонентов. Полученные результаты исследования показывают целесообразность назначения однократного курсового приема МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в III триместре беременности у женщин с варикозной болезнью вен малого таза для профилактики прогрессивного течения заболевания [Шибельгут Н. М. и соавт., 2010]. Ранее эффективность Детралекса при консервативном лечении варикозного расширения вен малого таза у женщин показана в еще одном клиническом исследовании [Мозес В.Г., 2005].

Высокий уровень доказательной эффективности лечения ХВН с применением МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН у лиц старших возрастных групп [Сабельников В.В. и соавт., 2001; Горелик С.Г. и соавт., 2012].

Флебопротекторные свойства МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН с дополнительным плейотропным механизмом действия подтверждают данные многих клинических исследований [Lyseng-Williamson K.A. et al., 2003;

Bergan J. et al., 2008; Pascarella L., 2007; Perrin M. et al., 2011; Kakkos S. et al., 2006; Ramelet A.-A. et al., 2008; Rutherford's Vascular Surgery, 2010] и отражены в клинических рекомендациях [Рос. клин. рекомен., 2009; Nicolaidis A. et al., 2008; Colerige Smith P.D., 2009].

Клиническая эффективность применения МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН показана в рандомизированных исследованиях как на ранних стадиях ХВН [Henriet J.-P. , 1995; Jantet G. , 2002; Martinez M.J. et al., 2005; Ramelet A.-A., 2005; Allaert F.A., 2011], так и при прогрессировании заболевания на поздних стадиях [Colerige-Smith P. et al., 2005].

Установлена и описана особенность МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в подавлении специфического болевого синдрома на разных стадиях ХВН [Danziger N., 2007; Bergan J. et al., 2008; Vital A. et al., 2010; Goldman M. et al., 2011].

Таким образом, МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН демонстрирует высокую клиническую эффективность у больных на всех стадиях ХВН.

### **Эффективность применения МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН при сахарном диабете 2 типа**

Сахарный диабет 2 типа (СД2) является одной из основных причин инвалидизации в пожилом и старческом возрасте. Одним из патологических проявлений этого заболевания является гипергликемия. Хотя к настоящему времени разработано множество лекарственных средств для лечения пациентов с инсулин-независимой гипергликемией, однако, они все еще являются неэффективными и относительно токсичными. Экспериментальные исследования, направленные на поиск нетоксичного лекарственного средства, имеющего повышенную эффективность в отношении снижения уровня глюкозы в крови, привели к неожиданному результату,

свидетельствующему о том, что биофлавоноиды обладают превосходным действием, понижающим уровень глюкозы в крови [Бок С.Х., 2000].

Группа исследователей из Кореи установила, что ряд флавоноидов, в том числе диосмин и гесперидин, эффективно снижают уровень глюкозы в крови животных с стрептозотоцин индуцированным диабетом 2 типа, а также у людей с диагнозом СД2 [Бок С.Х., 2000].

Основной причиной высокой инвалидизации и смертности больных сахарным диабетом (СД) является поражение сердечно-сосудистой системы [Марков Х.М., 2009; Шварц В., 2009]. В развитии осложнений СД важное значение придается эндотелиальной дисфункции (ЭД) [Ding H., 2010; Potenza M.A., 2010]. Инсулинорезистентность, гипергликемия, дислипидемия, компенсаторная гиперинсулинемия, активация симпато-адреналовой системы являются триггерными факторами развития ЭД при СД, участвуют в формировании кардиоваскулярных осложнений [Загидуллин Ш.З., 2010; Versari D., 2009]. Все вышеперечисленные патогенетические факторы, лежащие в основе развития ЭД при СД, способствуют активации оксидативного стресса (ОС) [Amanda J., 2008].

Группой российских исследователей установлено улучшение вазодилатирующей, антитромботической функций эндотелия, а также улучшение углеводного и липидного обмена при экспериментальном сахарном диабете (ЭСД) у крыс под влиянием флавоноидов флавицина, кверцетина, диосмина, гесперицина. Показано, что исследованные флавоноиды уменьшают метаболические нарушения у животных с ЭСД (уменьшают гипергликемию, гиперхолестеринемию, атерогенность) [Тюренков И.Н. и соавт., 2009, 2010; Слиецанс А.А. и соавт., 2010].

Исследовано влияние диосмина на уровни компонентов гликопротеинов в плазме и тканях крыс с стрептозотоцин и никотинамид индуцированным диабетом. Пероральное введение диосмина диабетическим крысам привело к снижению уровня глюкозы в плазме и плазменных



гликопротеинов. Уровни инсулина в плазме и ткани, а также сиаловой кислоты были увеличены, тогда как уровни тканевой гексозы, гексозамина и фукозы были близки к норме. Данное исследование показывает, что диосмин обладает значительным благоприятным воздействием на гликопротеины в дополнение к его антидиабетическому эффекту [Pari L. et al., 2010].

Т.о., можно полагать, что МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН является перспективным АФИ для создания новых препаратов, нацеленных на лечение СД2.

### **Биологические эффекты применения диосмина и гесперидина при заболеваниях печени**

Заболевания печени различной этиологии являются широко распространенной патологией [Мещинен И.Ф., 1989]. Поэтому расширение круга гепатопротекторов является актуальной задачей современной фармакологии [Венгеровский А.И. и соавт, 2001, 2007; Пауков В.С., 1996; Картавенко В.И. и соавт, 2004; Purro A., 1992]. Многофакторность поражений печени требует использования в клинической практике таких гепатопротекторов, которые способны осуществлять защиту на различных уровнях. Именно поэтому с учетом плейотропного характера действия флавоноидов разработка новых гепатопротекторов на их основе считается эффективной, особенно если учесть доказанное антиоксидантное действие этих соединений [Саратиков А.С., 2004; Калянова Н.А., 2002; Полунина Т. Е., 2005; Kim A. et al., 2005; Hyun S. et al., 2006; Hirata A. et al., 2005; Labrid C., 1994; Hwang J.M. et al., 2005; Scalbert A. et al., 2000; Lahouel M. et al., 2006; Samuesco D. et al., 2004].

На экспериментальных моделях установлено выраженное нормализующее влияние гесперидина, диосмина, флавицина, кверцетина на основные патологические синдромы (цитоллиз, холестаза, мезенхимальное

воспаление, печеночно-клеточную недостаточность) при токсических поражениях печени четыреххлористым углеродом и этанолом. Показано существование тесной корреляционной взаимосвязи между выраженностью гепатозащитного действия и степенью восстановления проантиоксидантного равновесия за счет прямого антиоксидантного действия флавоноидов в печени. Установлено, что курсовое введение флавоноидов оказывает стимулирующее влияние на активность КАБР+-редуктазных ферментов, принимающих участие в регенерации восстановленного глутатиона. Впервые показано, что введение гесперидина увеличивает печеночный кровоток в условиях нормы [Доркина Е.Г. и соавт., 2002, 2004].

В другом экспериментальном исследовании установлено, что введение гесперидина, диосмина животным (крысы) в дозах 100 мг/кг устраняет те сдвиги, которые развиваются в ходе окислительного стресса. Показано, что при остром гепатозе при отравлении четыреххлористым углеродом и алкогольном поражении печени у животных применение гесперидина, диосмина в дозах 100 мг/кг оказывает гепатозащитное действие. Установлено, что гесперидин и диосмин влияют на продукцию NO в организме животных, снижая её в условиях окислительного стресса и увеличивая в условиях нормы [Сергеева Е.О. и соавт, 2005, 2006].

### **Кардиопротекторное действие диосмина и гесперидина**

Сердечно-сосудистые заболевания остаются одними из наиболее распространенных и занимают первое место в структуре смертности и инвалидизации населения. Основой многих заболеваний сердца является нарушение метаболических процессов на клеточном и субклеточном уровне. Нарушения мембранного перекисного окисления липидов, патологическое накопление свободных радикалов, избыточный синтез активных форм

кислорода в миокарде являются первопричиной многих заболеваний сердца [Абрамченко В. В., 2001; Шанин Ю. Н. и соавт., 2003; Шилов А. М., 2004; Зборовская И. А., 2005; Басов А. А., 2007]. В то же время известно, что многие вещества из группы флавоноидов проявляют высокую антиоксидантную активность [Балаболкин М.И. и соавт., 2000; Гайворонская В.В. и соавт., 2000; Голиков А.П., 2004] и могут подавлять активность или связывать свободные радикалы [Доркина Е.Г. и соавт., 2004; 2007; Климкина Е.И. и соавт., 2004; Шульпекова Ю.О., 2004; Дадали В.А. и соавт., 2007].

Установлено, что диосмин и гесперидин, оказывают выраженный антиаритмический эффект на моделях хлоридкальциевой и строфантиновой аритмии в условиях алкогольного и доксорубицинового повреждений миокарда и при остром стрессорном воздействии в сравнении с такими антигипоксантами / антиоксидантами как триметилгидразиния пропионат, цитофлавин и этилметилгидроксипиридина сукцинат. Выявлено, что выраженное антиаритмическое действие гесперицина и диосмина сочетается с высокой антигипоксантной, антиоксидантной и мембраностабилизирующей активностью и подтверждается морфологическими данными, в некоторых случаях превосходя эффекты препаратов сравнения (триметилгидразиния пропионат, цитофлавин и этилметилгидроксипиридина сукцинат) [Крикова А.В., 2007; Крикова А.В. и соавт., 2011; Арльт А.В. и соавт., 2006; Новиков В.Е. и соавт., 2011].

## Глава 2

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 2.1. Клиническая характеристика пациентов

В исследование было включено 190 человек пожилого и среднего возраста. Все люди, включенные в исследование, были разделены на несколько групп:

1. Пациенты с ортостатической флебопатией (контрольная группа) (n=64):

1.1. пациенты с ортостатической флебопатией среднего возраста (n=31, возраст от 40 до 49 лет, средний возраст  $45,2 \pm 2,3$  года, мужчин – 15 чел., женщин - 16 чел.);

1.2. пациенты с ортостатической флебопатией пожилого возраста (n=33, возраст от 60 до 69 лет, средний возраст  $64,7 \pm 2,2$  года, мужчин – 15 чел., женщин - 18 чел.).

2. Пациенты, страдающие ХВН (n=62):

2.1. пациенты среднего возраста, страдающие ХВН: (n=30, возраст от 40 до 49 лет, средний возраст  $44,8 \pm 2,8$  года, мужчин – 13 чел., женщин - 17 чел.);

2.2. пациенты пожилого возраста, страдающие ХВН (n=32, возраст от 60 до 69 лет, средний возраст  $64,4 \pm 2,4$  года, мужчин – 15 чел., женщин - 17 чел.).

Все пациенты в этой группе страдали ХВН класса С2 - С3 (классификация СЕАР, 1994).

3. Пациенты, страдающие ХВН и сахарным диабетом (СД) 2 типа (n=64):

3.1. пациенты среднего возраста, страдающие ХВН и СД 2 типа (n=32) (возраст от 40 до 49 лет, средний возраст  $45,2 \pm 2,1$  года, мужчин – 15 чел., женщин - 17 чел.);

3.2. пациенты среднего возраста, страдающие ХВН и СД 2 типа (n=32, возраст от 60 до 69 лет, средний возраст  $65,2 \pm 2,2$  года, мужчин – 14 чел., женщин - 18 чел.).

Все пациенты в этой группе страдали ХВН класса С2 - С3 (классификация СЕАР, 1994) и СД II типа легкой и средней степени тяжести.

ХВН класса С2 - С3 (классификация СЕАР, 1994) диагностировали с использованием клинического и инструментального методов обследования. Клиническое обследование включало выявление жалоб, анамнез, осмотр. В качестве инструментального метода использовали ультразвуковую диагностику в В-режиме, доплеровское исследование.

Сахарный диабет 2 типа диагностировали по рекомендациями ВОЗ «Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia» (2006).

Диагностическое подтверждение патологии проводилась специалистами клинических баз медицинского факультета ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». При этом диагностика ХВН проводилась в полном соответствии с «Российскими национальными рекомендациями по диагностике и лечению ХВН» (2010), диагностика СД 2 типа в соответствии с рекомендациями ВОЗ «Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia» (2006).

**Исследование выполнялось по двум направлениям.**

**Первое направление.**

Исследование цитокинового профиля при ХВН, сочетании ХВН и СД 2 типа у пациентов разного возраста: изучение содержания в сыворотке крови фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ), интерлейкинов (IL) IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10.

### **Второе направление.**

Исследование в сыворотке крови уровня иммунореактивного инсулина (ИРИ), глюкозы, малонового диальдегида (МДА).

Все исследования проводились в начале эксперимента и через 30 суток после назначения фармакотерапии препаратом МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН (в виде коммерческого препарата «Детралекс») в дозировке 1000 мг\сутки (1 таблетка, покрытая оболочкой, содержит 500 мг микронизированной очищенной флавоноидной фракции, включающей 450 мг диосмина (90%) и 50 мг флавоноидов в виде гесперидина (10%)) по схеме, предложенной производителем. Все больные принимали препарат в течение 30 суток.

Пациенты контрольной группы принимали этот же препарат по описанной выше схеме в качестве профилактического венотонизирующего средства, основываясь на установленном факте повышенного уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке крови, как факторе риска развития ХВН, по показанию «ортостатическая флебопатия». У каждого пациента было получено согласие на участие в исследовании.

Все пациенты проходили клиническое и инструментальное обследование, которое включало: объективный осмотр, определение индекса массы тела, общий анализ крови, общий анализ мочи.

У каждого пациента было получено согласие на проведение данных исследований.

## **2.2. Определение в сыворотке крови уровня цитокинов**

Для определения роли нейроиммуноэндокринной системы в развитии ХВН и эффективности проводимой комплексной терапии у больных ХВН и практически здоровых людей из контрольной группы в утреннее время натощак производили забор крови пункционным методом из локтевой вены с помощью широкой иглы в пластиковые пробирки, из которой готовили сыворотку. Полученный субстрат помещали в пробирки типа Eppendorf и хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до момента проведения анализа.

Уровень цитокинов (ФНО- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием реактивов ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск на планшетном спектрофотометре Thermo Scientific Multiskan Go.

### **2.3. Биохимические исследования.**

Содержание глюкозы и иммунореактивного инсулина (ИРИ) определяли в сыворотке крови, взятой из локтевой вены в утреннее время натощак (производили забор крови пункционным методом с помощью широкой иглы в пластиковые пробирки, из которой готовили сыворотку).

Концентрацию глюкозы в сыворотке крови определяли ферментативным методом на основе глюкозооксидазной реакции с использованием наборов реактивов «Fluitest® GLU» фирмы BioCon (Германия).

Содержание иммунореактивного инсулина (ИРИ) в сыворотке крови определяли радиоиммунным методом с использованием набора реактивов «рио-ИНС-ПГ-1251» «ХОП ИБОХ НАНБ» (г. Минск, Беларусь) на сцинтилляционном счетчике «WALLAC 1470 WIZARD TM FACIT E 560» (Финляндия).

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в свежеприготовленной сыворотке крови малонового диальдегида (МДА).

В основе метода лежит реакция между МДА и тиобарбитуровой кислотой, которая при высокой температуре и кислом значении pH протекает с образованием окрашенного триметинового комплекса, содержащего одну молекулу МДА и две молекулы тиобарбитуровой кислоты. Максимум поглощения комплекса приходится на 532 нм. По оптической плотности образующихся продуктов судили о содержании малонового диальдегида.

#### **2.4. Компьютерное прогнозирование биологической активности веществ с использованием методов виртуальной хемогеномики.**

Исследование проводилось методом *in silico* с помощью виртуального скрининга в сервисе прогнозирования спектра активности веществ (Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)), который базируется на алгоритме общей неограниченной взаимосвязи между структурой и активностью (General Unrestricted Structure-Activity Relationships (GUSAR)) [Филимонов Д.А., Поройков В.В., 2006; Poroikov V.V. et al., 2000, 2003].

Средняя точность прогноза составляла около 95% (Leave-one-out cross-validation). Проведен виртуальный скрининг потенциальной биологической активности как диосмина, так и гесперидина. При проведении виртуального скрининга анализ был направлен на выявление следующей потенциальной активности: антигеморрагической, антиоксидантной, гиполипемической, антитромботической, антигиперхолестеролимической, противовоспалительной и иммуностимулирующей.

Данные, полученные при виртуальном скрининге, представлялись как



оценки вероятности наличия ( $P_a$ ) и отсутствия ( $P_i$ ) активности, имеющие значения от 0 до 1.

## **2.5. Статистическая обработка результатов**

Статистическую обработку материала выполняли на персональном компьютере в статистических программных пакетах Microsoft Excel, Statistica 6.0. При статистическом анализе материала выполняли расчет интенсивных и экстенсивных показателей средних величин, определяли достоверность различий средних и относительных величин по t-критерию Стьюдента. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

## Глава 3

## НЕЙРОИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ФАРМАКОТЕРАПИИ МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН ПРИ ПОЛИМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИИ

### 3.1. Концентрация TNF- $\alpha$ в сыворотке крови как маркер иммунного воспаления у людей среднего и пожилого возраста

Как известно, увеличение уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке крови является одним из наиболее ярких признаков развивающегося иммунного воспаления. Нами установлено, что уровень TNF- $\alpha$  в сыворотке крови существенно зависит от наличия ХВН и сопутствующего СД2. Достоверно показано ( $p < 0,05$ ), что увеличение этого показателя при ХВН по сравнению с группой контроля не превышает исходный уровень более чем в 1,5 раза и не зависит от возрастной группы пациента. Результаты исследования содержания TNF- $\alpha$  в сыворотке крови представлены в Таблице 3.1.

Таблица 3.1

Зависимость уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке крови больных ХВН  
от возраста и степени полиморбидности

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
TNF- $\alpha$ , пг/мл	Средний	69,1 $\pm$ 3,1	105,6 $\pm$ 4,4	135,0 $\pm$ 5,5
	Пожилой	69,5 $\pm$ 3,4*	109,0 $\pm$ 4,5*	154,0 $\pm$ 5,9 <sup>#</sup>

$p < 0,05$  по сравнению с группой контроля

\*  $p > 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста

#  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста

Как видно из данных Таблицы 3.1, невозможно обнаружить достоверные различия в уровне TNF- $\alpha$  ( $p > 0,05$ ) у людей пожилого и среднего возраста. Эта закономерность характерна как для людей с ортостатической флебопатией, так и для страдающих ХВН. Увеличение степени полиморбидности за счет СД 2 типа достоверно ( $p < 0,05$ ) приводит к увеличению содержанию этого цитокина в сыворотке крови у людей обеих возрастных групп, причем у людей пожилого возраста эти изменения достоверно ( $p < 0,05$ ) более выражены по сравнению с людьми среднего возраста. Так, уровень TNF- $\alpha$  в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил  $109,0 \pm 4,5$  пг/мл против  $105,6 \pm 4,4$  пг/мл у людей среднего возраста ( $p > 0,05$ ), при сочетании ХВН СД 2 типа – соответственно  $154,0 \pm 5,9$  пг/мл и  $135,0 \pm 5,5$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) соответственно (Рисунок 3.1).

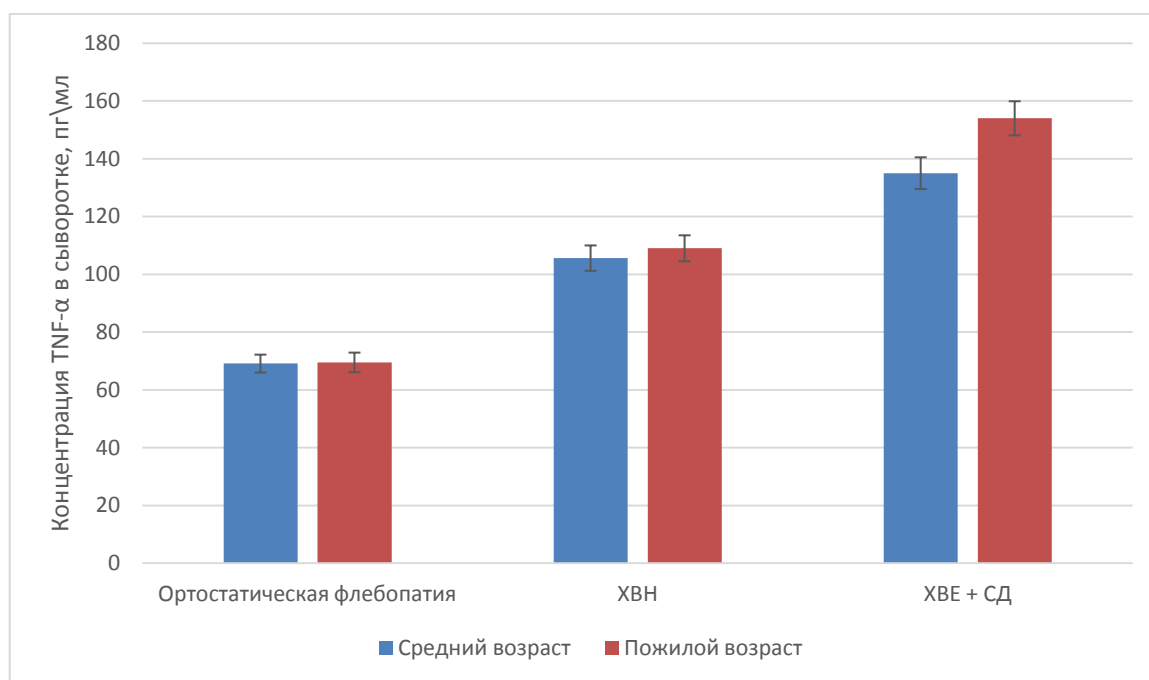


Рисунок 3.1. Зависимость уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа.

Таким образом, можно полагать, что концентрация TNF- $\alpha$  в сыворотке крови, как одного из ключевых агентов иммунного воспаления, при ХВН может служить дополнительным индикатором хронического воспалительного процесса. В случае нарастания полиморбидности, присоединения к ХВН СД 2 типа, интегральные показатели концентрации TNF- $\alpha$  в сыворотке крови более полно характеризуют уровень комплексной провоспалительной реакции организма человека за счет суммарного вклада в экспрессию цитокина как моноцитов, так и клеток эндотелия сосудистой стенки и клеток кишечника.

Эти данные свидетельствуют, по-видимому, о том, что для людей с факторами риска развития этих заболеваний в среднем и пожилом возрасте характерен определенный повышенный уровень концентрации TNF- $\alpha$ , как отражение провоспалительного ответа иммунной системы на различные медиаторы экзогенного и эндогенного происхождения. При этом концентрацию цитокина в сыворотке крови возможно рассматривать как интегральный показатель иммунного воспаления.

TNF- $\alpha$  - многофункциональный провоспалительный цитокин, образующийся в основном моноцитами и макрофагами, который влияет на липидный метаболизм, коагуляцию, устойчивость к инсулину, функционирование эндотелия, стимулирует продукцию ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, интерферона-гамма, активирует лейкоциты, является одним из важных факторов защиты от внутриклеточных паразитов и вирусов. TNF- $\alpha$  активирует ядерный транскрипционный фактор NF- $\kappa$ B (ядерный фактор «каппа-би) — универсальный фактор транскрипции, контролирующей экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла. Нарушение регуляции NF- $\kappa$ B вызывает воспаление, аутоиммунные заболевания, а также развитие вирусных инфекций и рака.

Избыточная продукция TNF- $\alpha$  оказывает цитотоксический эффект на клетки организма.

Исследования последних лет фокусируются на роли цитокинов как медиаторов воспаления эндотелия кровеносных сосудов. Одним из важнейших цитокинов этого плана является именно TNF- $\alpha$ . Наиболее вероятным механизмом развития воспаления в стенке сосудов является стимуляция моноцитов в ходе воспалительного процесса, под влиянием которого они секретируют TNF- $\alpha$ , повышенное количество последнего активирует каскад иммунных воспалительных реакций.

Ситуация значительно осложняется при повышении степени полиморбидности: при присоединении воспалительных заболеваний эндотелия кишечника и сопутствующем СД 2 типа уровень TNF- $\alpha$  повышается еще больше, что значительно усиливает воспалительный процесс в эндотелии кровеносных сосудов. Воспалительный процесс в воспаленной области сосудов становится все более генерализованным, что приводит к нарушению проницаемости стенки сосуда и развитию отечных и застойных явлений в тканях нижних конечностей. Поэтому очевидным практическим выводом из полученных нами экспериментальных данных является необходимость активного снижения экспрессии TNF- $\alpha$  при ХВН. Известны некоторые способы подавления экспрессии TNF- $\alpha$  путем фармакологической коррекции метаболизма. Так, обнаружен плеiotропный эффект антибиотика фузафунгина, который выражается в подавлении секреции молекул межклеточной адгезии (ICAM-1) и экспрессии TNF- $\alpha$  на поверхности макрофагов *in vitro* [German-Fattal M., 1998]. Во время острой фазы воспаления макрофаги высвобождают TNF- $\alpha$ , индуцируя выраженную экспрессию ICAM-1 на поверхности макрофагов. Регуляция экспрессии TNF- $\alpha$  и ICAM-1 может оказаться одним из главных механизмов, с помощью которого макрофаги регулируют воспалительную реакцию. Следовательно,

воздействие на уровне макрофагов открывает новые перспективы в плане контролирования хода воспалительной реакции.

Описано некоторое влияние классических нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) на снижение концентрации TNF- $\alpha$  в сыворотке крови. Такой плеiotропный эффект обнаружен у неселективного ингибитора циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) ациклофенака [Gotzsche P.C., 2000; Насонова В.А., 2005]. В рандомизированных контролируемых экспериментах показана эффективность агентов, блокирующих TNF- $\alpha$  – инфликсимаба, этанерцепта, адалимумаба [Braun J. et al., 2008; Dijkmans B. et al., 2009; van der Heijde D. et al., 2009; Arends S. et al., 2012]. Однако существенным недостатком указанных препаратов является их высокая стоимость и, соответственно, недоступность для основной части пациентов как пожилого, так и среднего возраста с диагнозом ХВН.

Однако, учитывая полиморбидность заболеваемости в пожилом и старческом возрасте и связанную с ней полипрагмазию по-прежнему актуальным является поиск плеiotропных эффектов лекарственных средств, снижающих экспрессию TNF- $\alpha$  и, в то же время, являющихся экономичными и низкотоксичными. Поэтому нами изучено влияние на уровень TNF- $\alpha$  стандартной терапии ХВН в виде применения МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН (в виде коммерческого препарата «Детралекс») в дозировке 1000 мг\сутки (1 таблетка, покрытая оболочкой, содержит 500 мг микронизированной очищенной флавоноидной фракции, включающей 450 мг диосмина (90%) и 50 мг флавоноидов в виде гесперидина (10%)) по схеме, предложенной производителем. Все больные принимали препарат в течение 30 суток.

Пациенты с ортостатической флебопатией пожилого и среднего возраста принимали этот же препарат по описанной выше схеме в качестве профилактического вентонизирующего средства, основываясь на

установленном факте повышенного уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке крови, как факторе риска развития ХВН.

### 3.2. Влияние фармакотерапии ХВН МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН на концентрацию TNF- $\alpha$ в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста

Установлено, что уровень TNF- $\alpha$  в сыворотке крови при фармакотерапии ХВН в течении 30 суток МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН существенно понижается. Результаты исследования содержания TNF- $\alpha$  в сыворотке крови представлены в Таблице 3.2.

Таблица 3.2

Зависимость уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке крови больных ХВН от возраста и степени полиморбидности через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
TNF- $\alpha$ , пг/мл	Средний	45,2 $\pm$ 2,5	75,0 $\pm$ 3,6	88,0 $\pm$ 3,9
	Пожилой	59,0 $\pm$ 3,0*	92,1 $\pm$ 4,0*	130,5 $\pm$ 5,5*

$p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой и соответствующими значениями по стадиям ХВН до начала фармакотерапии;

\*  $p < 0,05$  по сравнению с людьми среднего возраста

Как видно из данных Таблицы 3.2, уровень TNF- $\alpha$  после фармакотерапии в течении 30 суток МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН достоверно отличается от такового у пациентов с ортостатической флебопатией и наиболее высок при сочетании ХВН и СД 2 типа ( $p < 0,05$ ). Увеличение полиморбидности достоверно ( $p < 0,05$ ) приводит к увеличению содержания этого цитокина в сыворотке крови. Так, уровень TNF- $\alpha$  в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил  $92,1 \pm 4,0$  пг/мл, страдающих ХВН + СД 2 типа, составил  $130,5 \pm 5,5$  пг/мл против  $59,0 \pm 3,0$  пг/мл у контрольной группы ( $p < 0,05$ ), у людей среднего возраста –  $75,0 \pm 3,6$  пг/мл,  $88,0 \pm 3,9$  пг/мл и  $45,2 \pm 2,5$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) соответственно (Таблицы 3.2).

Фармакотерапия в течении 30 суток МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН привела к достоверному снижению концентрации TNF- $\alpha$  в сыворотке крови у пациентов с ортостатической флебопатией ( $p < 0,05$ ). Причем уровень снижения у людей среднего возраста более значителен, по сравнению с людьми пожилого возраста: у людей среднего возраста –  $45,2 \pm 2,5$  пг/мл через 30 дней терапии против  $69,1 \pm 3,1$  пг/мл до начала терапии; у людей пожилого возраста –  $59,0 \pm 3,0$  пг/мл и  $69,5 \pm 3,4$  пг/мл соответственно ( $p < 0,05$ ).

Можно предположить, что более выраженное влияние терапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН на концентрацию TNF- $\alpha$  в плазме крови у пациентов с ортостатической флебопатией среднего возраста по сравнению с людьми пожилого возраста связано, по-видимому, с более высоким уровнем активности ферментативных и репликативных систем организма в среднем возрасте, более активно реагирующих на фармакотерапевтическое воздействие. С практической точки зрения для достижения подобного результата у пациентов с ортостатической флебопатией пожилого возраста необходимо увеличить продолжительность курса фармакотерапии либо



использовать повышенные ударные дозы препарата в соответствии с рекомендациями производителя.

В случае ХВН различия между начальным уровнем TNF- $\alpha$  и уровнем через 30 суток фармакотерапии также достоверны ( $p < 0,05$ ) и составляют для людей пожилого возраста  $109,0 \pm 4,5$  пг/мл и  $92,1 \pm 4,0$  пг/мл соответственно и для людей среднего возраста -  $105,6 \pm 4,4$  пг/мл и  $75,0 \pm 3,6$  пг/мл соответственно (Рисунок 3.2). Причем вновь изменения в концентрации TNF- $\alpha$  до и после лечения более выражены у людей среднего возраста, у которых уровень этого цитокина после фармакотерапии практически приближается к уровню, характерному для пациентов контрольной группы. Этот факт также, видимо, свидетельствует в пользу большей лабильности иммуноферментативных систем организма в среднем возрасте по сравнению с пожилым возрастом.

При присоединении к ХВН СД 2 типа также обнаружено существенное достоверное снижение уровня TNF- $\alpha$  через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН ( $p < 0,05$ ). Так у людей пожилого возраста он составляет до начала терапии  $154,0 \pm 5,9$  пг/мл и через 30 суток терапии  $130,5 \pm 5,5$  пг/мл, а для людей среднего возраста -  $135,0 \pm 5,5$  пг/мл и  $88,0 \pm 3,9$  пг/мл соответственно (Рисунок 3.2).

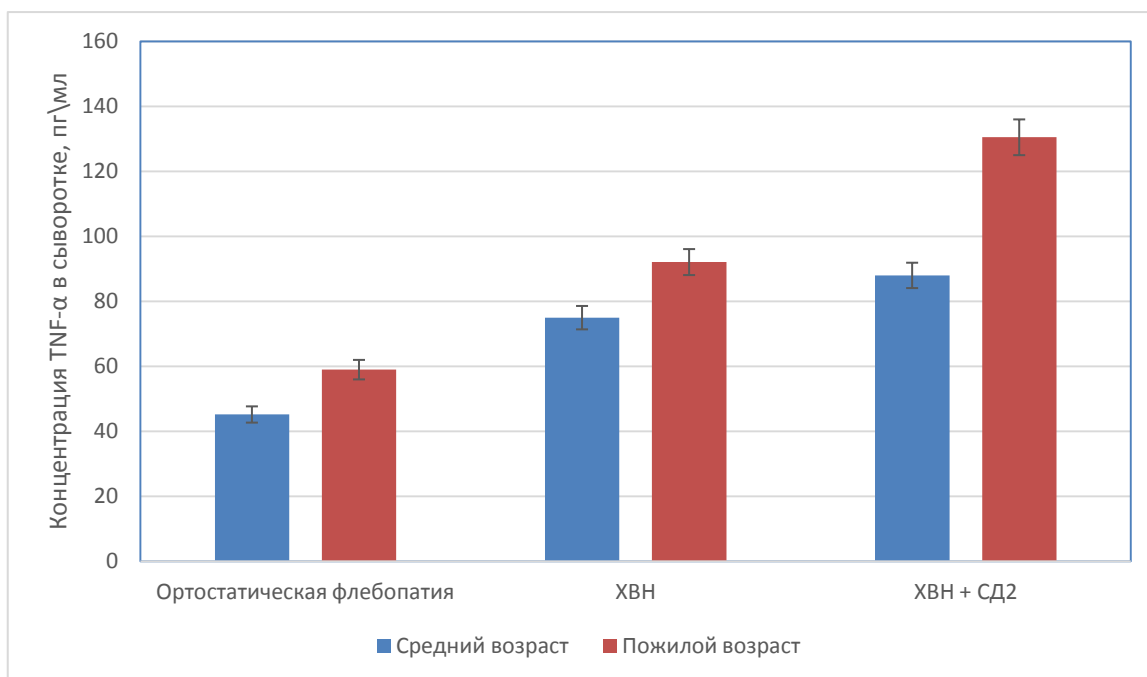


Рисунок 3.2. Зависимость уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН.

### 3.3. Концентрация IL-1 $\beta$ в сыворотке крови как дополнительный маркер иммунного воспаления при ХВН

При исследовании цитокинового профиля сыворотки крови людей пожилого и среднего возраста, которые страдают ХВН, установлено, что уровень IL-1 $\beta$  значительно отличается от контрольных значений в группе сравнения. Достоверно установлено ( $p < 0,05$ ), что концентрация этого цитокина примерно в 1,5 раза превосходит контрольный уровень у пациентов контрольной группы пожилого возраста и примерно на треть выше у людей среднего возраста по сравнению с контролем. Результаты исследования содержания IL-1 $\beta$  в сыворотке крови представлены в Таблице 3.3.

Таблица 3.3

Зависимость уровня IL-1 $\beta$  в сыворотке крови больных ХВН

## пожилого возраста от стадии заболевания

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
IL-1 $\beta$ , пг/мл	Средний	185,0 $\pm$ 22,0	240,5 $\pm$ 25,5	350,0 $\pm$ 32,2
	Пожилой	189,2 $\pm$ 22,3*	290,4 $\pm$ 29,4*	394,8 $\pm$ 36,6*

$p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

\*  $p > 0,05$  по сравнению с людьми среднего возраста.

Как видно из данных Таблицы 3.3, уровень IL-1 $\beta$  в сыворотке крови при увеличении полиморбидности за счет присоединения СД 2 типа достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличивается по сравнению с пациентами, страдающими только ХВН. Существенно, что как у пациентов контрольной группы, так и у пациентов с ХВН и ХВН + СД2 типа уровень этой сигнальной молекулы практически не отличается у людей среднего и пожилого возраста при сравнении показателей в соответствующих группах ( $p > 0,05$ ). Так, уровень IL-1 $\beta$  в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил 290,4 $\pm$ 29,4 пг/мл против 189,2 $\pm$ 22,3 пг/мл относительно пациентов контрольной группы ( $p < 0,05$ ), при переходе к ХВН + СД 2 типа – 394,8 $\pm$ 36,6 пг/мл ( $p < 0,05$ ); у людей среднего возраста – 240,5 $\pm$ 25,5 пг/мл и 185,0 $\pm$ 22,0 пг/мл и 350,0 $\pm$ 32,2 пг/мл соответственно ( $p < 0,05$ ) (Рисунок 3.3).

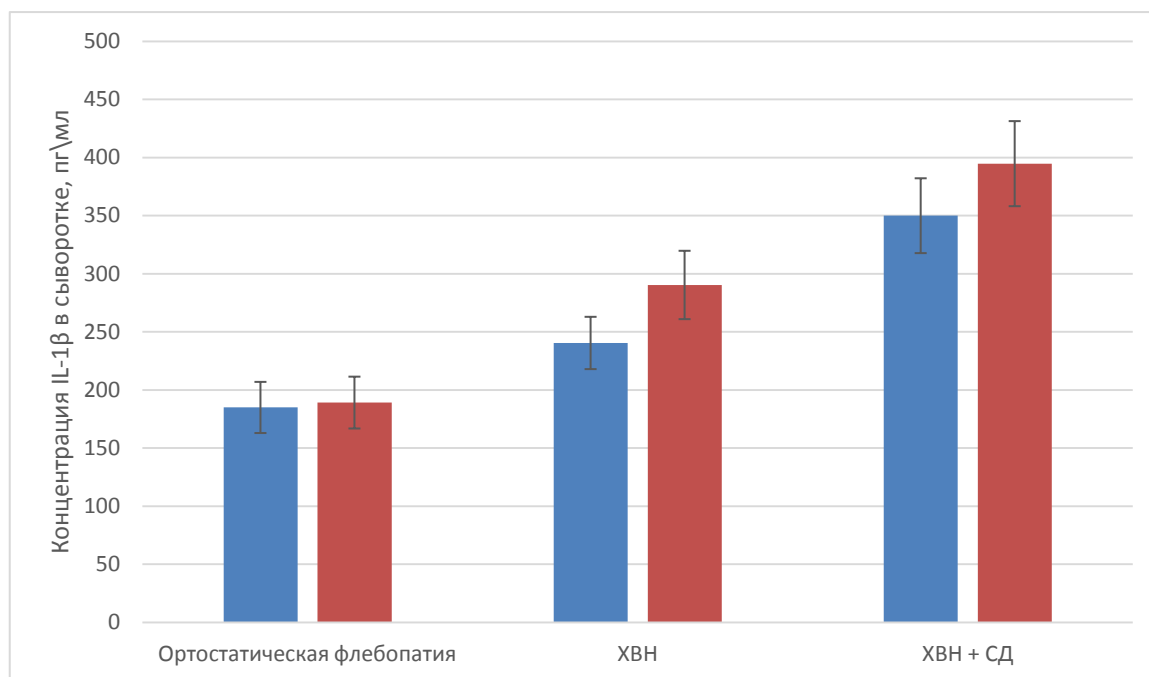


Рисунок 3.3. Зависимость уровня IL-1 $\beta$  в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа.

По своей природе IL-1 $\beta$  является провоспалительным цитокином, уровень экспрессии которого связан с уровнем экспрессии других цитокинов в очаге воспаления. Экспериментально установлено, что одним из основных факторов, обеспечивающих пролиферацию культивируемых лимфоцитов, является синтезируемый макрофагами IL-1.

Безусловно, характер протекания патологического процесса связан с возрастными изменениями в нейроиммуноэндокринной системе пациентов. Однако отсутствие достоверных различий в концентрации IL-1 $\beta$  в сыворотке крови у людей среднего и пожилого возраста не позволяет рассматривать этот показатель как фактор различий в активации провоспалительной системы в ходе старения организма. В тоже время, можно полагать, что концентрация IL-1 $\beta$ , как одного из ключевых агентов иммунного

воспаления, при ХВН и сочетании ХВН с СД 2 типа может служить дополнительным индикатором хронического воспалительного процесса.

### **3.4. Влияние фармакотерапии ХВН МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН на концентрацию IL-1 $\beta$ в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста**

Установлено, что уровень IL-1 $\beta$  в сыворотке крови при фармакотерапии ХВН МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток достоверно снижается только у людей пожилого возраста ( $p < 0,05$ ). В то время как у людей среднего возраста терапия не влияет на уровень этой сигнальной молекулы, кажущееся снижение уровня является недостоверным ( $p > 0,05$ ). Результаты исследования содержания IL-1 $\beta$  в сыворотке крови представлены в Таблице 3.4.

Таблица 3.4

Зависимость уровня IL-1 $\beta$  в сыворотке крови больных ХВН от возраста и степени полиморбидности через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
IL-1 $\beta$ , пг/мл	Средний	159,0 $\pm$ 20,0	221,5 $\pm$ 25,5	301,0 $\pm$ 28,8

	Пожилой	162,3±20,2*	210,0±22,6*	342,7±32,0*

$p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

\*  $p > 0,05$  по сравнению с людьми среднего возраста.

Как видно из данных Таблицы 3.4, уровень IL-1 $\beta$  через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН достоверно отличается от такового у пациентов контрольной группы при ХВН и при ХВН + СД 2 типа ( $p < 0,05$ ). Результат фармакотерапии выражается в достоверном снижении уровня цитокина по сравнению со значением до начала фармакотерапии ( $p < 0,05$ ) только в случае больных, страдающих ХВН. Присоединение СД 2 типа не приводит к значимому снижению уровня сигнальной молекулы по сравнению со значением до начала терапии ( $p > 0,05$ ).

Так, уровень IL-1 $\beta$  в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил 210,0±22,6 пг/мл против 162,3±20,2 пг/мл у пациентов контрольной группы ( $p < 0,05$ ), при переходе к ХВН + СД 2 типа – 342,7±32,0 пг/мл ( $p < 0,05$ ); у людей среднего возраста - 221,5±25,5 пг/мл, 159,0±20,0 пг/мл и 301,0±28,8 пг/мл ( $p < 0,05$ ) соответственно (Рисунок 3.4).

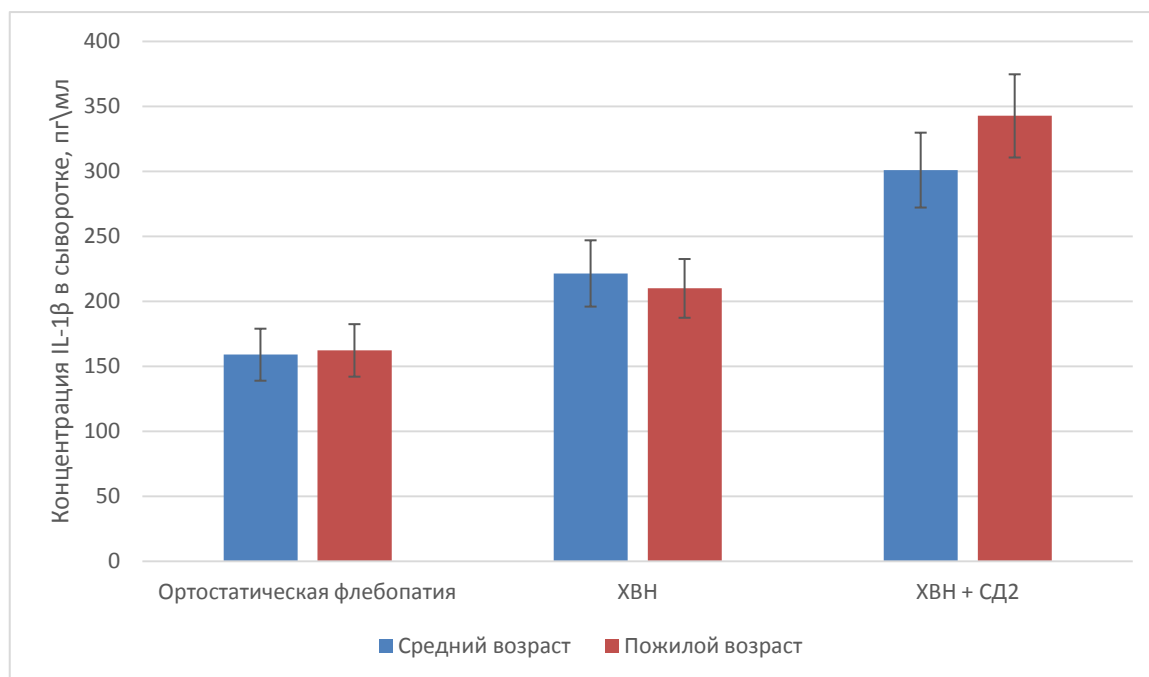


Рисунок 3.4. Зависимость уровня IL-1 $\beta$  в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН.

Таким образом, нами установлено что фармакотерапия МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток приводит к достоверному снижению концентрации IL-1 $\beta$  в сыворотке крови больных ХВН только у людей пожилого возраста по сравнению со значениями до начала терапии ( $p < 0,05$ ). В случае людей среднего возраста терапия не влияет на уровень этой сигнальной молекулы, кажущееся снижение уровня является недостоверным ( $p > 0,05$ ).

### 3.5. Концентрация IL-4 в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН

При исследовании цитокинового профиля сыворотки крови людей пожилого возраста, которые страдают ХВН, установлено, что уровень IL-4 достоверно отличается от контрольных значений в группе сравнения. Результаты исследования содержания IL-4 в сыворотке крови представлены в Таблице 3.5.

Таблица 3.5

Зависимость уровня IL-4 в сыворотке крови больных ХВН пожилого и среднего возраста от степени полиморбидности

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
IL-4, пг/мл	Средний	7,8±1,3	14,3±1,7 <sup>*,#</sup>	20,6±1,9 <sup>*,#</sup>
	Пожилой	5,0±0,9	9,5±1,5 <sup>*,#,<sup>o</sup></sup>	15,5±1,6 <sup>*,#,<sup>o</sup></sup>

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

#  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН;

<sup>o</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста.

Как видно из данных Таблицы 3.5, содержание IL-4 в сыворотке крови у пациентов контрольной группы среднего возраста составило 7,8±1,3 пг/мл. Нарастание полиморбидности приводит к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-4. Так, у больных среднего



возраста с ХВН уровень IL-4 в сыворотке крови составил  $14,3 \pm 1,7$  пг/мл, у больных с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $20,6 \pm 1,9$  пг/мл.

Содержание IL-4 в сыворотке крови у пациентов контрольной группы пожилого возраста составило  $5,0 \pm 0,9$  пг/мл. Этот показатель достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже, чем у людей среднего возраста. При изолированном течении ХВН имело место достоверное увеличение содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови до  $9,5 \pm 1,5$  пг/мл ( $p < 0,05$  по сравнению с пожилыми пациентами контрольной группы) (Рисунок 3.5).

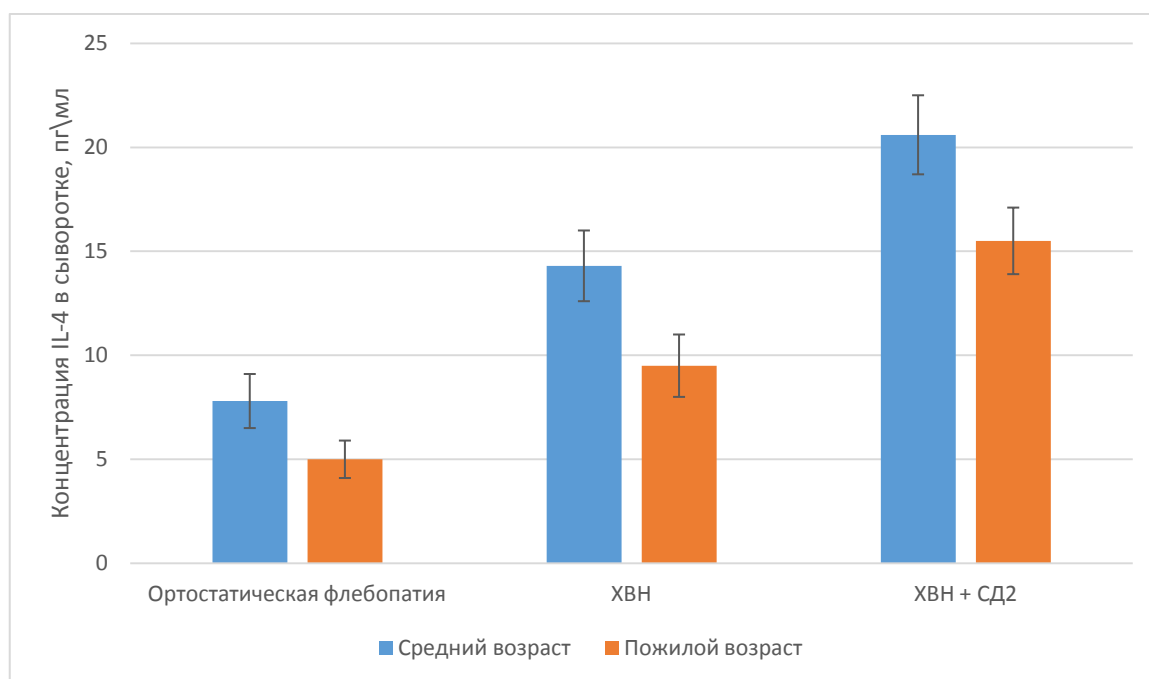


Рисунок 3.5. Зависимость уровня IL-4 в сыворотке крови больных ХВН

от возраста и сопутствующего СД 2 типа.

Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-4. У

больных пожилого возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $15,5 \pm 1,6$  пг/мл. Важно отметить, что достоверно более низкий уровень ( $p < 0,05$ ) IL-4 в сыворотке крови у людей пожилого возраста в сравнении с людьми среднего возраста наблюдался во всех изученных случаях (как при монопатологии ХВН, так и при полиморбидной патологии).

Как известно, IL-4 является регулятором роста и дифференциации В-лимфоцитов, а также процесса биосинтеза ими антител. Этот цитокин подавляет активность макрофагов и процесс биосинтеза ими провоспалительных цитокинов IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, то есть оказывает противовоспалительный эффект. Полученные нами экспериментальные данные по концентрации IL-4 в сыворотке крови говорят о том, что в пожилом возрасте по сравнению со средним возрастом достоверно ( $p < 0,05$ ) снижается активность противовоспалительной системы организма (если судить по уровню IL-4 в сыворотке крови). Однако увеличение полиморбидности, тем не менее, приводит к росту этого показателя как в пожилом, так и в среднем возрасте.

### **3.6. Влияние фармакотерапии ХВН МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН на концентрацию IL-4 в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста**

Установлено, что уровень IL-4 в сыворотке крови при фармакотерапии ХВН МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток достоверно увеличивается по сравнению с уровнем до начала приема препарата ( $p < 0,05$ ). Результаты исследования содержания IL-4 в сыворотке крови представлены в Таблице 3.6.

Таблица 3.6

Зависимость уровня IL-4 в сыворотке крови больных ХВН  
от возраста и степени полиморбидности через 30 суток фармакотерапии  
МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
IL-4, пг/мл	Средний	10,8±1,6	20,0±1,8 <sup>*,#</sup>	28,9±2,2 <sup>*,#</sup>
	Пожилой	7,0±1,0	13,3±1,6 <sup>*,#,o</sup>	21,7±2,0 <sup>*,#,o</sup>

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

# $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН;

<sup>o</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста.

Как видно из данных Таблицы 3.6, уровень IL-4 через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН достоверно отличается ( $p < 0,05$ ) от такового у контрольной группы в группах людей как среднего, так и пожилого возраста. Очевидно, что фармакотерапия МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН несколько повышает активность противовоспалительной системы организма, если судить по уровню цитокинемии IL-4. Так, уровень IL-4 в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил 13,3±1,6 пг/мл против 7,0±1,0 пг/мл у относительно пациентов контрольной группы, при сочетании ХВН и СД 2

типа –  $21,7 \pm 2,0$  пг/мл; у людей среднего возраста -  $20,0 \pm 1,8$  пг/мл,  $10,8 \pm 1,6$  пг/мл и  $28,9 \pm 2,2$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) соответственно (Рисунок 3.6).

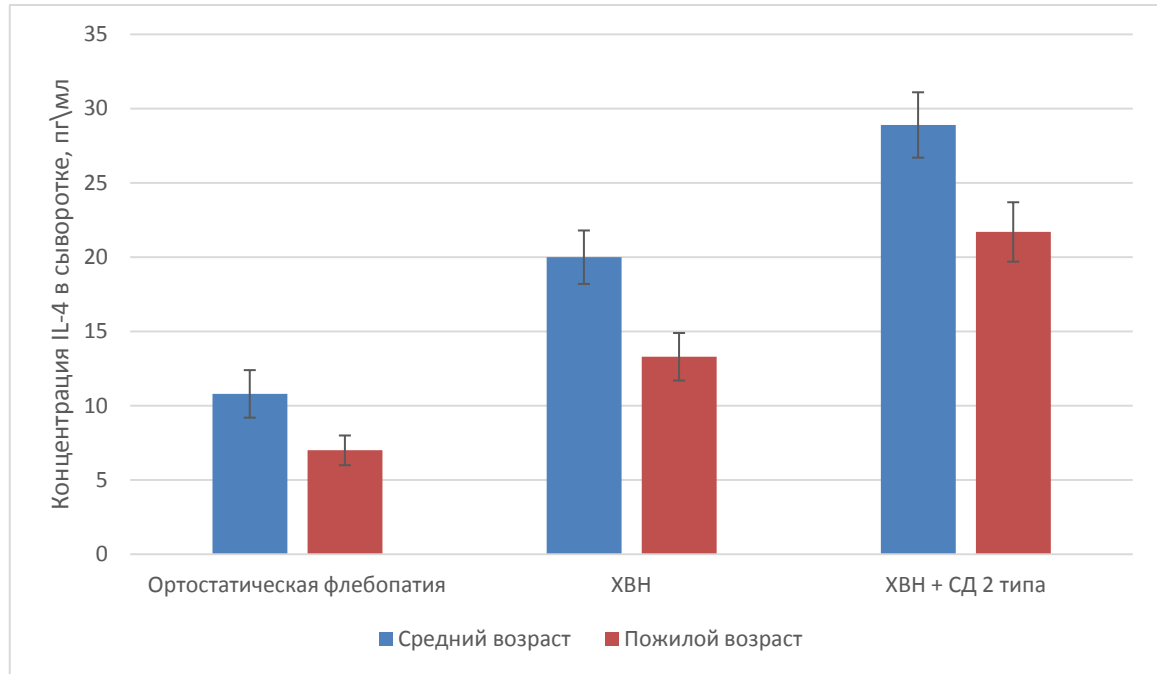


Рисунок 3.6. Зависимость уровня ИЛ-4 в сыворотке крови больных ХВН возраста и сопутствующего СД 2 типа через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН.

Таким образом, нами установлено, что комплексная фармакотерапия МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток приводит к активации противовоспалительной системы организма, что проявляется в достоверном увеличении концентрации ИЛ-4 в сыворотке крови больных ХВН и ХВН + СД 2 типа ( $p < 0,05$ ) по сравнению со значениями до начала терапии.

### 3.7. Концентрация IL-6 в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН, как дополнительный маркер иммунного воспаления

При исследовании цитокинового профиля сыворотки крови людей пожилого возраста, которые страдают ХВН, установлено, что уровень IL-6 существенно зависит от стадии заболевания. Результаты исследования содержания IL-6 в сыворотке крови представлены в Таблице 3.7.

Таблица 3.7

Зависимость уровня IL-6 в сыворотке крови больных ХВН пожилого и среднего возраста от степени полиморбидности

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
IL-6, пг/мл	Средний	6,7±1,2	7,3±1,3	12,5±1,8 <sup>*,#</sup>
	Пожилой	6,8±1,2	9,8±1,4 <sup>*</sup>	17,3±2,0 <sup>*,#</sup>

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

# $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН.

Как видно из данных Таблицы 3.7, уровень IL-6 у пациентов контрольной группы среднего возраста составил 6,7±1,2 пг/мл. При изолированном течении ХВН не происходило достоверного увеличения содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови, показатель составил 7,3±1,3 пг/мл ( $p > 0,05$  по сравнению с пациентами контрольной группы среднего возраста). Дальнейшее же нарастание полиморбидности

приводило к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-6. Так, у больных среднего возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $12,5 \pm 1,8$  пг/мл.

Содержание IL-6 у пациентов контрольной группы пожилого возраста составило  $6,8 \pm 1,2$  пг/мл. При изолированном течении ХВН имело место достоверное увеличение содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови до  $9,8 \pm 1,4$  пг/мл ( $p < 0,05$  по сравнению с пациентами контрольной группы пожилого возраста). Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-6. У больных пожилого возраста с ХВН и ИБС уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $17,3 \pm 2,0$  пг/мл. При этом достоверные отличия в сравнении со средним возрастом наблюдались только при ХВН и СД 2 типа ( $p < 0,05$ ). В случае монопатологии ХВН отличия были недостоверными ( $p > 0,05$ ).

По своей природе IL-6 может действовать как провоспалительный, так и противовоспалительный цитокин. Эта сигнальная молекула синтезируется активированными макрофагами и Т-клетками и стимулирует иммунный ответ. IL-6 является одним из важнейших медиаторов острой фазы воспаления. Как видно из Рисунка 3.7, наши экспериментальные данные свидетельствуют о том, что уровень IL-6 в сыворотке крови является одной из наиболее показательных характеристик воспалительной иммунной реакции при ХВН. При развитии иммунного воспаления при ХВН концентрация IL-6 в сыворотке крови существенно возрастает.

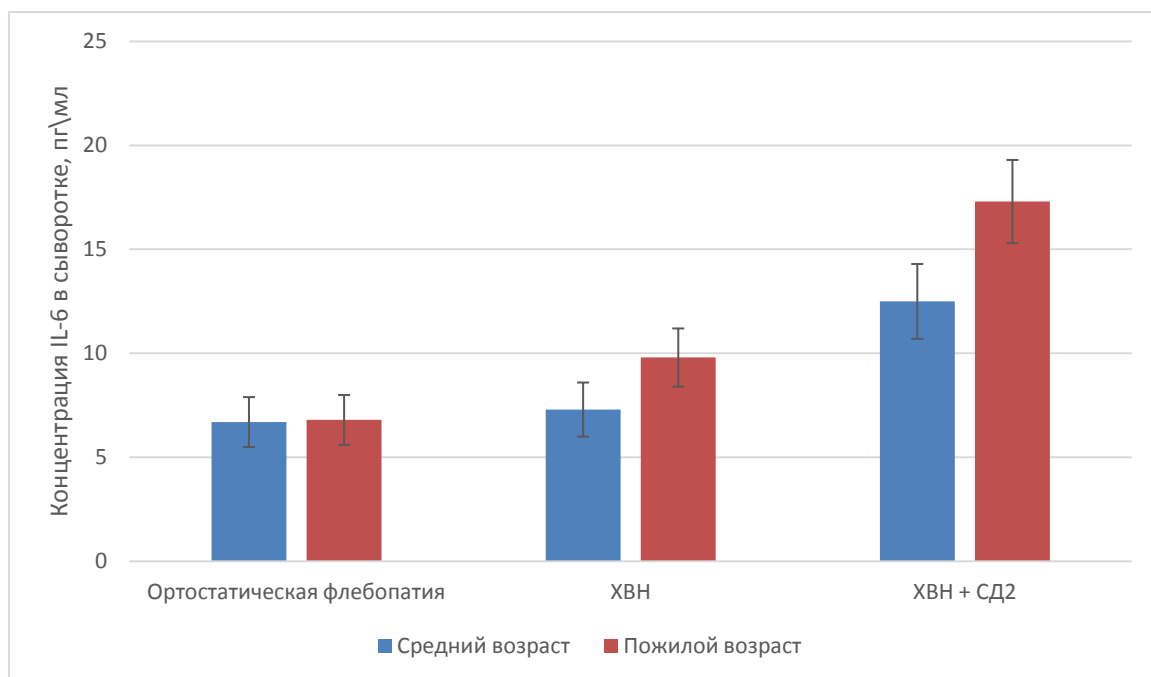


Рисунок 3.7. Зависимость уровня IL-6 в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа.

Характерно, что значимые различия в уровне IL-6 проявляются только при сочетании ХВН+СД 2 типа. Этот факт прямо указывает на взаимосвязь между возрастом (средним или пожилым) и характером влияния полиморбидности на уровень цитокина. Такая динамика изменения концентрации IL-6 в сыворотке, по-видимому, отражает дуализм регулирующего влияния этого медиатора на иммунное воспаление при ХВН: с одной стороны – подавление, с другой – активация. Учитывая существенные значимые ( $p < 0,05$ ) различия в уровне IL-6 в сыворотке крови, цитокинэмию по IL-6 возможно использовать как дополнительный маркер иммунного воспаления при ХВН.

### **3.8. Влияние фармакотерапии ХВН МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН на концентрацию IL-6 в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста**

Установлено, что уровень IL-6 в сыворотке крови при фармакотерапии ХВН в течении 30 суток МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН достоверно уменьшается по сравнению с уровнем до начала лечения как у пациентов с ортостатической флебопатией, так и у больных ХВН и ХВН + СД 2 типа ( $p < 0,05$ ). Результаты исследования содержания IL-6 в сыворотке крови представлены в Таблице 3.8.

Как видно из данных Таблицы 3.8, уровень IL-6 при ХВН + СД 2 типа через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН достоверно отличается ( $p < 0,05$ ) от такового у пациентов контрольной группы.

Так, уровень IL-6 в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил  $5,9 \pm 1,1$  пг/мл против  $4,5 \pm 0,9$  пг/мл у относительно пациентов контрольной группы, при переходе к ХВН + СД 2 типа –  $11,4 \pm 1,7$  пг/мл ( $p < 0,05$ ); у людей среднего возраста –  $4,8 \pm 1,0$  пг/мл,  $4,4 \pm 0,9$  пг/мл и  $8,1 \pm 1,3$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) соответственно (Рисунок 3.8).

Таблица 3.8

**Зависимость уровня IL-6 в сыворотке крови больных ХВН от возраста и степени полиморбидности через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН**

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
IL-6,		$4,4 \pm 0,9$	$4,8 \pm 1,0$	$8,1 \pm 1,3^{*,\#}$



пг/мл	Средний			
	Пожилой	4,5±0,9	5,9±1,1	11,4±1,7 <sup>*,#</sup>

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

# $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН.

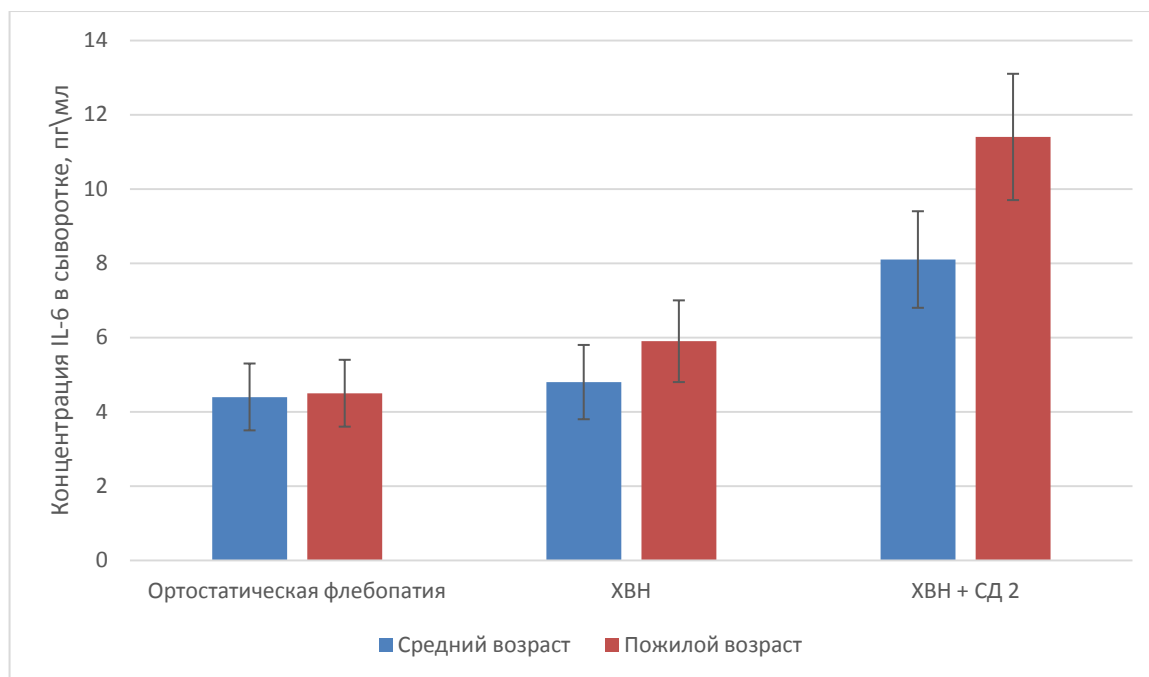


Рисунок 3.8. Зависимость уровня ИЛ-6 в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН.

Таким образом, нами установлено, что комплексная фармакотерапия МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток приводит к достоверному уменьшению концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови пациентов контрольной группы и больных ХВН и ХВН + СД 2 типа ( $p < 0,05$ ) по сравнению со значениями до начала терапии.

### 3.9. Концентрация IL-8 в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН.

При исследовании цитокинового профиля сыворотки крови людей пожилого возраста, которые страдают ХВН, установлено что уровень IL-8 существенно зависит от наличия сопутствующего СД 2 типа. Результаты исследования содержания IL-8 в сыворотке крови представлены в Таблице 3.9.

Таблица 3.9

Зависимость уровня IL-8 в сыворотке крови больных ХВН пожилого и среднего возраста от степени полиморбидности

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
IL-8, пг/мл	Средний	3,7±0,5	6,2±1,0*	10,8±1,5*. <sup>#</sup>
	Пожилой	5,1±0,6	9,6±1,3*	16,7±1,7*. <sup>#</sup>

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

<sup>#</sup>  $p > 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН.

Как видно из данных Таблицы 3.9, содержание IL-8 в сыворотке крови у пациентов контрольной группы среднего возраста составило 3,7±0,5 пг/мл.

Нарастание полиморбидности приводит к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-8. Так, у больных среднего возраста с ХВН уровень IL-8 в сыворотке крови составил  $6,2 \pm 1,0$  пг/мл, у больных с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $10,8 \pm 1,5$  пг/мл.

Содержание IL-8 в сыворотке крови у пациентов контрольной группы пожилого возраста составило  $5,1 \pm 0,6$  пг/мл. Этот показатель достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем у людей среднего возраста. При изолированном течении ХВН имело место достоверное увеличение содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови до  $9,6 \pm 1,3$  пг/мл ( $p < 0,05$  по сравнению со пациентами контрольной группы пожилого возраста). Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-8. У больных пожилого возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $16,7 \pm 1,7$  пг/мл. Важно отметить, что достоверно более высокий уровень ( $p < 0,05$ ) IL-8 в сыворотке крови у людей пожилого возраста в сравнении с людьми среднего возраста наблюдался во всех изученных случаях (как при монопатологии ХВН, так и при полиморбидной патологии).

Как известно, IL-8 является одним из основных провоспалительных хемокинов, образуемый макрофагами, эпителиальными и эндотелиальными клетками. Играет важную роль в системе врождённого иммунитета. Полученные нами экспериментальные данные по концентрации IL-8 в сыворотке крови говорят о том, что в пожилом возрасте по сравнению со средним возрастом достоверно ( $p < 0,05$ ) повышается активность провоспалительной системы организма (если судить по уровню IL-8 в сыворотке крови). Увеличение полиморбидности приводит к росту этого показателя как в пожилом, так и в среднем возрасте.

Как видно из Рисунка 3.9, уровень IL-8 в сыворотке крови является одной из показательных характеристик воспалительной иммунной реакции при ХВН.

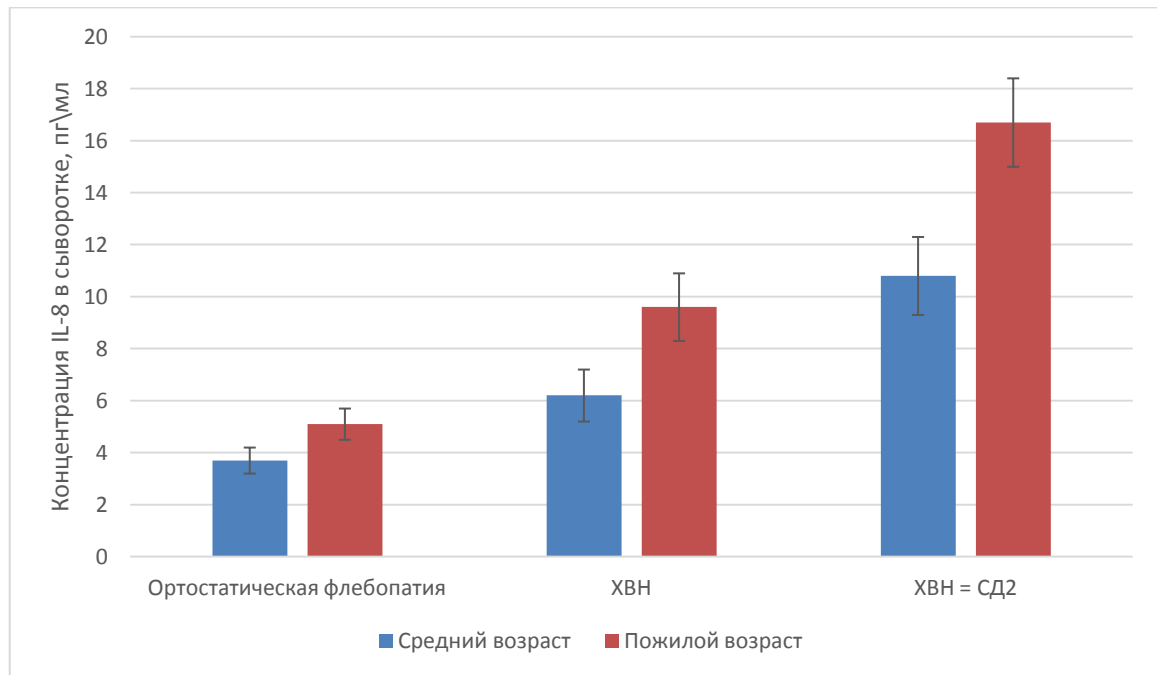


Рисунок 3.9. Зависимость уровня IL-8 в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа.

Учитывая существенные значимые ( $p < 0,05$ ) различия в уровне IL-8 в сыворотке крови, цитокинемию по IL-8 возможно использовать как дополнительный маркер ХВН и ХВН в сочетании с СД 2 типа.

**3.10. Влияние фармакотерапии ХВН МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН на концентрацию IL-8 в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста**

Установлено, что фармакотерапия в течении 30 суток МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН приводит к достоверному уменьшению концентрации IL-8 в сыворотке крови как у пациентов с ортостатической флебопатией, так и больных ХВН и ХВН с СД 2 типа. Результаты исследования содержания IL-8 в сыворотке крови представлены в Таблице 3.10.

Таблица 3.10

Зависимость уровня IL-8 в сыворотке крови больных ХВН от возраста и степени полиморбидности через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
IL-8, пг/мл	Средний	2,6±0,4	4,3±0,6*	7,6±1,2*. <sup>#</sup>
	Пожилой	3,9±0,5	6,7±1,1*	11,7±1,5*. <sup>#</sup>

\* p<0,05 по сравнению с контрольной группой;

<sup>#</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН;

$p < 0,05$  по сравнению с соответствующими показателями до начала лечения.

Как видно из данных Таблицы 3.10, через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН содержание IL-8 в сыворотке крови у пациентов контрольной группы среднего возраста составило  $2,6 \pm 0,4$  пг/мл. Нарастание полиморбидности приводит к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-8. Так, у больных среднего возраста с ХВН уровень IL-8 в сыворотке крови составил  $4,3 \pm 0,6$  пг/мл, у больных с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $7,6 \pm 1,2$  пг/мл.

Содержание IL-8 в сыворотке крови у пациентов контрольной группы пожилого возраста составило  $3,9 \pm 0,5$  пг/мл. Этот показатель достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем у людей среднего возраста. При изолированном течении ХВН имело место достоверное увеличение содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови до  $6,7 \pm 1,1$  пг/мл ( $p < 0,05$  по сравнению со пациентами контрольной группы пожилого возраста). Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-8. У больных пожилого возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $11,7 \pm 1,5$  пг/мл. Важно отметить, что достоверно более высокий уровень ( $p < 0,05$ ) IL-8 в сыворотке крови у людей пожилого возраста в сравнении с людьми среднего возраста наблюдался во всех изученных случаях (как при монопатологии ХВН, так и при полиморбидной патологии).

Важно отметить, что 30-дневный курс фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН привел к достоверному уменьшению уровня IL-8 в сыворотке крови у людей обеих возрастных групп, как у пациентов с ортостатической флебопатией, так и имеющих различную степень

полиморбидности заболеваемости. При этом снижение уровня цитокина в результате фармакотерапии в процентном отношении примерно одинаково и пропорционально. Этот факт свидетельствует, по-видимому, о том, что флавоноиды испытуемого препарата оказывают заметный противовоспалительный эффект на систему иммунного воспаления, который для данного цитокина (IL-8) не связан с возрастом человека либо характерным заболеванием (ХВН или ХВН + СД2) (Рисунки 3.9 и 3.10).

С практической точки зрения выявленный нами эффект можно использовать для доказательной оценки эффективности фармакотерапии ХВН или ХВН, которая сочетается с СД 2 типа. При этом лечащий врач может не учитывать возраст пациента (средний или пожилой).

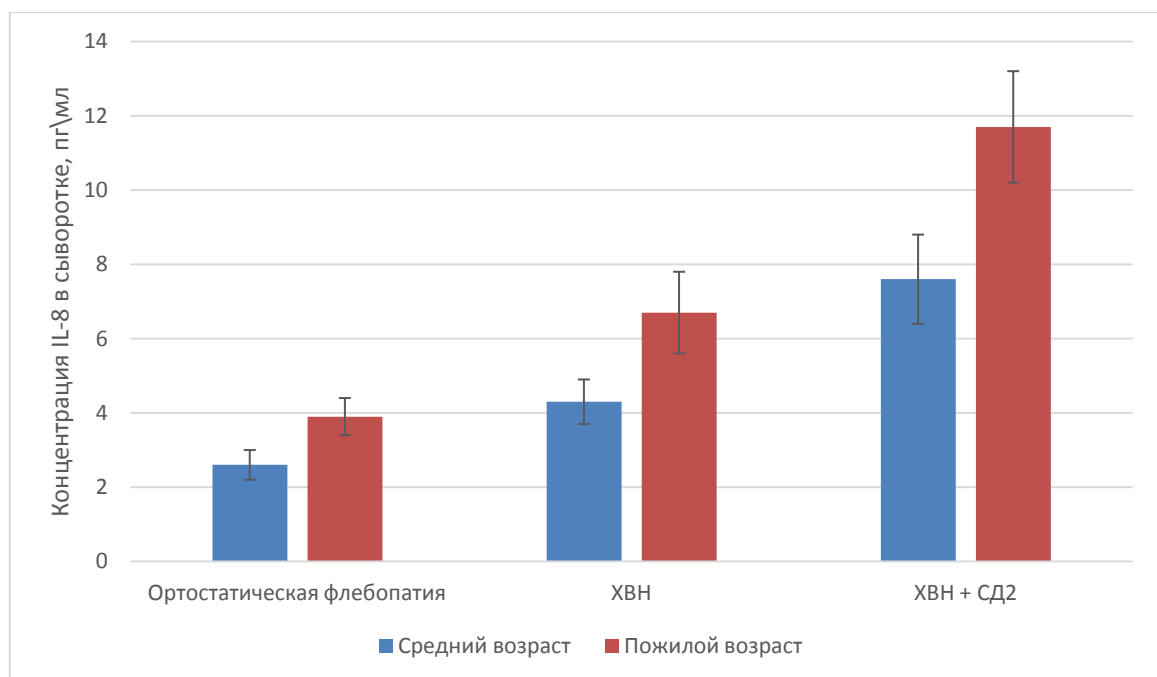


Рисунок 3.10. Зависимость уровня IL-8 в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН.

Таким образом, нами установлено, что фармакотерапия МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН приводит к достоверному уменьшению уровня IL-8 в сыворотке крови у людей обеих возрастных групп, как у пациентов с ортостатической флебопатией, так и имеющих различную степень полиморбидности заболеваемости ( $p < 0,05$ ), по сравнению со значениями до начала терапии.

### 3.11. Концентрация IL-10 в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН

При исследовании цитокинового профиля сыворотки крови людей пожилого и среднего возраста, которые страдают ХВН, установлено, что уровень IL-10 существенно зависит от наличия сопутствующего СД 2 типа. Результаты исследования содержания IL-10 в сыворотке крови представлены в Таблице 3.11.

Таблица 3.11

Зависимость уровня IL-10 в сыворотке крови больных ХВН пожилого и среднего возраста от степени полиморбидности

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
IL-10, пг/мл	Средний	2,1±0,4	6,3±1,1*	9,7±1,4* <sup>#</sup>
	Пожилой	1,4±0,2	3,4±1,0*	7,0±1,2* <sup>#,o</sup>



--	--	--	--	--

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

#  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН;

<sup>o</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста.

Как видно из данных Таблицы 3.11, уровень IL-10 в сыворотке крови у пациентов контрольной группы среднего возраста составил  $2,1 \pm 0,4$  пг/мл. Нарастание полиморбидности приводит к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-10. Так, у больных среднего возраста с ХВН уровень IL-10 в сыворотке крови составил  $6,3 \pm 1,1$  пг/мл, у больных с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $9,7 \pm 1,4$  пг/мл.

Содержание IL-10 в сыворотке крови у пациентов контрольной группы пожилого возраста составило  $1,4 \pm 0,2$  пг/мл. Этот показатель достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже, чем у людей среднего возраста. При изолированном течении ХВН имело место достоверное увеличение содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови до  $3,4 \pm 1,0$  пг/мл ( $p < 0,05$  по сравнению с пациентами контрольной группы пожилого возраста). Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-10. У больных пожилого возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $7,0 \pm 1,2$  пг/мл.

Существенно, что достоверно более низкий уровень ( $p < 0,05$ ) IL-10 в сыворотке крови у людей пожилого возраста по сравнению с людьми среднего возраста наблюдался во всех изученных случаях (как при монопатологии ХВН, так и при полиморбидной патологии).

Известно, что IL-10 является противовоспалительным цитокином, продуцируется Т-клетками (Th2) и может рассматриваться как антагонист

ряда других цитокинов. IL-10 подавляет экспрессию всех провоспалительных цитокинов, интерферона, пролиферативный ответ Т-клеток на антигены и митогены, а также подавляет секрецию активированными моноцитами IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и IL-6. Полученные нами экспериментальные данные по концентрации IL-10 в сыворотке крови говорят о том, что в пожилом возрасте по сравнению со средним возрастом достоверно ( $p < 0,05$ ) снижается активность противоспалительной системы организма (если судить по уровню IL-10 в сыворотке крови). Однако увеличение полиморбидности тем не менее приводит к росту этого показателя как в пожилом, так и в среднем возрасте. Эти данные согласуются с нашими данными о возрастзависимом изменении экспрессии IL-4, другого противоспалительного цитокина (Рисунок 3.11).

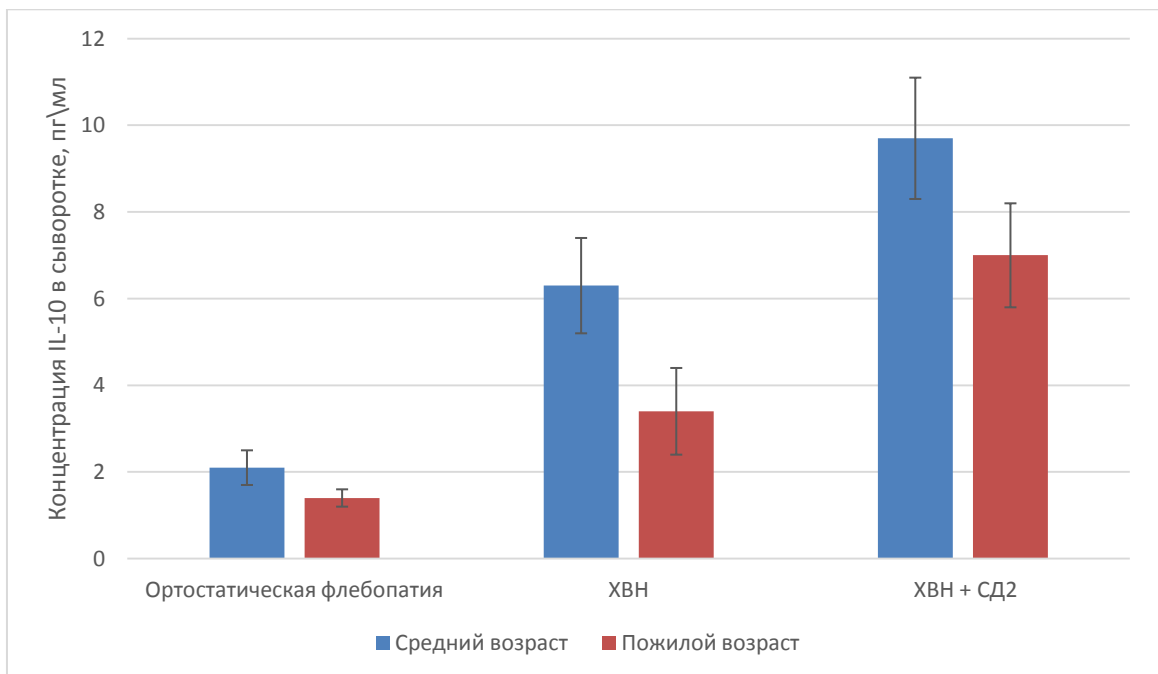


Рисунок 3.11. Зависимость уровня IL-10 в сыворотке крови больных ХВН

от возраста и сопутствующего СД 2 типа.

Очевидно, что экспрессия IL-10 при ХВН недостаточна и не позволяет в достаточной мере ингибировать сверхпродукцию TNF- $\alpha$  и, таким образом, вызвать торможение процессов воспаления эндотелия сосудов нижних конечностей.

### **3.12. Влияние фармакотерапии ХВН МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН на концентрацию IL-10 в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста**

Установлено, что уровень IL-10 в сыворотке крови при комплексной фармакотерапии ХВН в течении 30 суток МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН зависит от степени полиморбидности. Результаты исследования содержания IL-10 в сыворотке крови представлены в Таблице 3.12.

Таблица 3.12

Зависимость уровня IL-10 в сыворотке крови больных ХВН от возраста и степени полиморбидности через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
IL-10, пг/мл	Средний	3,4 $\pm$ 0,7	8,7 $\pm$ 1,1*	12,5 $\pm$ 1,5*,#

	Пожилой	2,2±0,4	4,5±1,0*	9,6±1,3 <sup>*,#,o</sup>

\* p<0,05 по сравнению с контрольной группой;

<sup>#</sup>p<0,05 по сравнению с пациентами с ХВН;

<sup>o</sup>p<0,05 по сравнению с пациентами среднего возраста.

Как видно из данных Таблицы 3.12, уровень IL-10 через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН достоверно отличается (p<0,05) от такового у пациентов контрольной группы на всех стадиях заболевания. Очевидно, что применение МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН несколько повышает активность противовоспалительной системы организма, если судить по уровню цитокинемии IL-10.

Так, содержание IL-10 в сыворотке крови у пациентов контрольной группы среднего возраста составило 3,4±0,7 пг/мл. Нарастание полиморбидности приводит к достоверному (p<0,05) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-10. У больных среднего возраста с ХВН уровень IL-10 в сыворотке крови составил 8,7±1,1 пг/мл, у больных с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил 12,5±1,5 пг/мл.

Содержание IL-10 в сыворотке крови у пациентов контрольной группы пожилого возраста составило 2,2±0,4 пг/мл. Этот показатель достоверно (p<0,05) ниже, чем у людей среднего возраста. При изолированном течении ХВН имело место достоверное увеличение содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови до 4,5±1,0 пг/мл (p<0,05 по сравнению с пациентами контрольной группы пожилого возраста) (Рисунок 3.12).

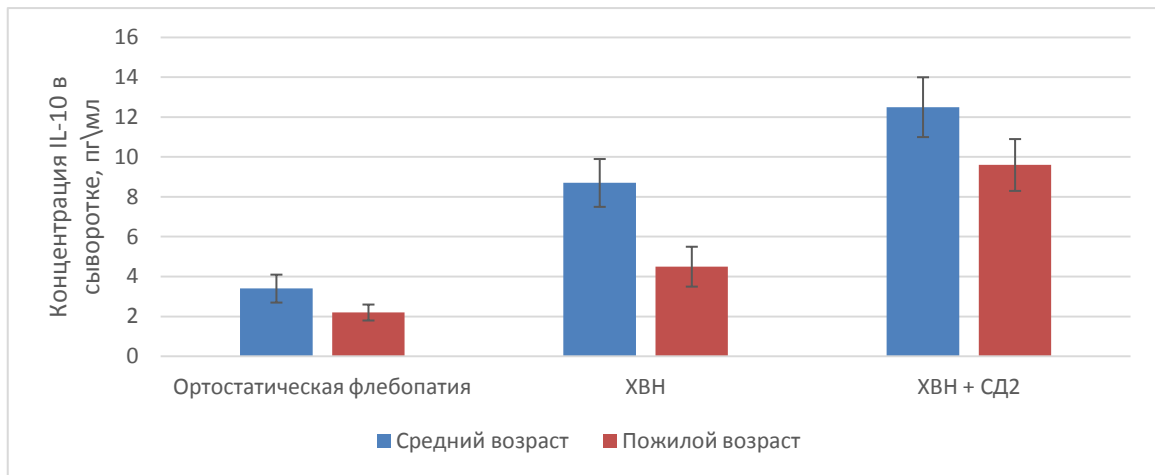


Рисунок 3.12. Зависимость уровня IL-10 в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН.

Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ( $p < 0,05$ ) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-10. У больных пожилого возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил  $9,6 \pm 1,3$  пг/мл. Важно отметить, что достоверно более низкий уровень ( $p < 0,05$ ) IL-10 в сыворотке крови у людей пожилого возраста по сравнению с людьми среднего возраста наблюдался во всех изученных случаях (как при монопатологии ХВН, так и при полиморбидной патологии) (Рисунок 3.12).

Таким образом, нами установлено что фармакотерапия МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток приводит к достоверному увеличению концентрации IL-10 в сыворотке крови у пациентов с ортостатической флебопатией и больных ХВН и ХВН + СД 2 типа ( $p < 0,05$ ) по сравнению со значениями до начала терапии.

## Глава 4

### **ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОТЕРАПИИ МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН НА УРОВЕНЬ ИММУНОРЕАКТИВНОГО ИНСУЛИНА И УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН ПРИ ХВН И СД 2 ТИПА**

#### **4.1. Концентрация иммунореактивного инсулина (ИРИ) в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН до и после фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток**

Установлено, что уровень ИРИ в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН существенно не отличается, однако присоединение СД 2 типа приводит к достоверному увеличению этого показателя. Результаты исследования содержания ИРИ в сыворотке крови представлены в Таблице 4.1.

Как видно из данных Таблицы 4.1, уровень ИРИ у пациентов контрольной группы среднего возраста практически не отличается от уровня, выявленного у больных ХВН ( $p > 0,05$ ). Однако при присоединении СД 2 типа достоверно ( $p < 0,05$ ) повышается примерно в 2 раза. У людей пожилого возраста наблюдается общая тенденция к более низкому уровню ИРИ в сыворотке крови по сравнению с людьми среднего возраста во всех группах испытуемых, однако эти отличия нельзя считать достоверными ( $p > 0,05$ ).

Так, уровень ИРИ в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил  $4,3 \pm 1,0$  мкЕД/мл против  $4,4 \pm 1,1$  мкЕД/мл у пациентов контрольной группы ( $p > 0,05$ ).

Таблица 4.1

Зависимость уровня иммунореактивного инсулина в сыворотке крови больных ХВН пожилого и среднего возраста от степени полиморбидности

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
ИРИ, мкЕД/мл	Средний	$6,5 \pm 1,4$	$6,3 \pm 1,4^*$	$14,0 \pm 2,1^\#$
	Пожилый	$4,4 \pm 1,1^o$	$4,3 \pm 1,0^{*,o}$	$12,0 \pm 2,0^{\#,o}$

\*  $p > 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

<sup>#</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН;

<sup>o</sup>  $p > 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста.

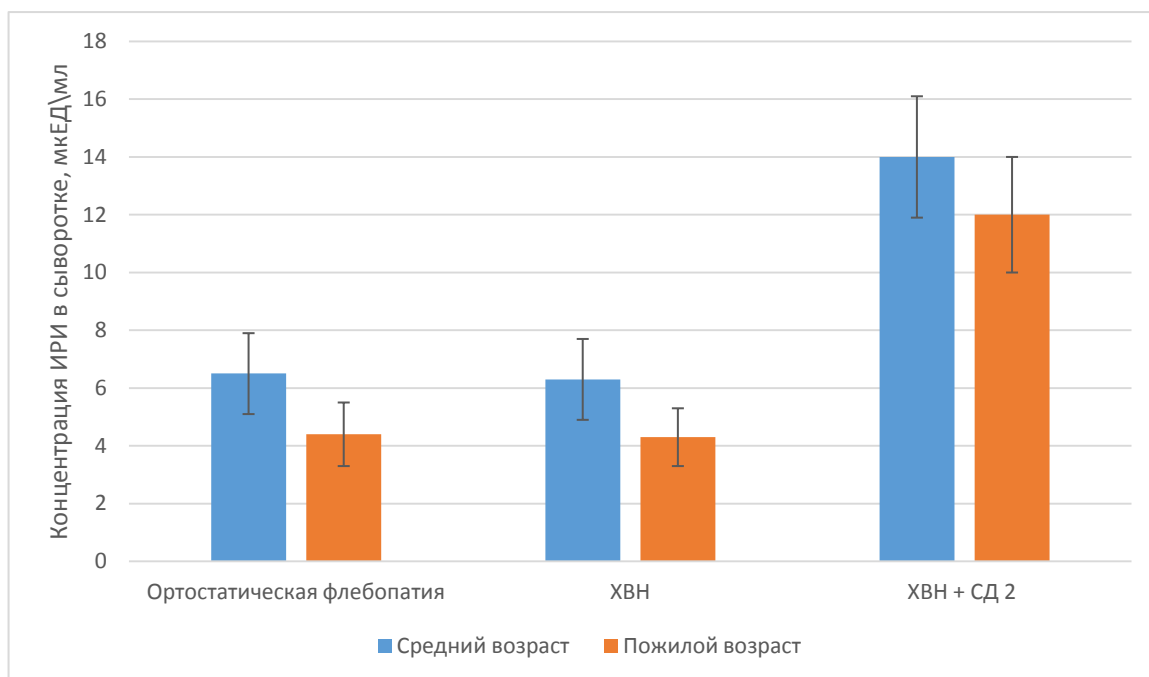


Рисунок 4.1. Зависимость уровня ИРИ в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа.

При переходе к ХВН + СД 2 типа –  $12,0 \pm 2,0$  мкЕД/мл, ( $p < 0,05$  по сравнению пациентами контрольной группы и больными ХВН); у больных среднего возраста –  $6,3 \pm 1,4$  мкЕД/мл,  $6,5 \pm 1,4$  мкЕД/мл и  $14,0 \pm 2,1$  мкЕД/мл соответственно (Рисунок 4.1).

Применение фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток не выявило достоверного изменения концентрации ИРИ в сыворотке крови пациентов контрольной группы и больных ХВН ( $p > 0,05$ ) по сравнению с уровнями до начала фармакотерапии (Таблица 4.2).

Таблица 4.2

Зависимость уровня иммунореактивного инсулина в сыворотке крови больных ХВН от возраста и степени полиморбидности через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН



Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
ИРИ, мкЕД/мл	Средний	6,4±1,4	6,2±1,4*	13,8±2,0 <sup>#</sup>
	Пожилой	4,3±1,1 <sup>o</sup>	4,1±1,0 <sup>*,o</sup>	11,7±1,9 <sup>#,o</sup>

\*  $p > 0,05$  по сравнению с пациентами контрольной группы;

<sup>#</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН;

<sup>o</sup>  $p > 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста.

Как видно из Рисунка 4.2, общие тенденции в изменении уровня ИРИ в зависимости от уровня полиморбидности, возраста и состояния пациента через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН повторяют таковые до начала лечения (исходный уровень).

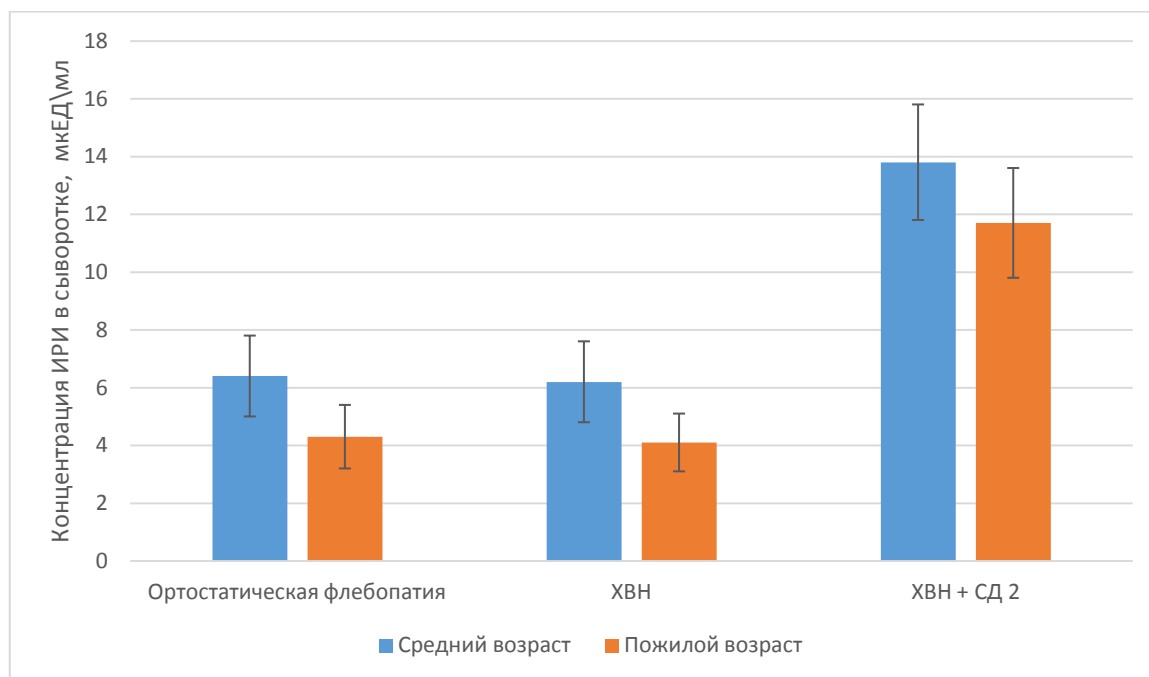


Рисунок 4.2. Зависимость уровня ИРИ в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН.

#### 4.2. Концентрация глюкозы в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН до и после фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток

Установлено, что уровень глюкозы в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН существенно не отличается, однако присоединение СД 2 типа приводит к достоверному увеличению этого показателя. Результаты исследования содержания глюкозы в сыворотке крови представлены в Таблице 4.3.

Таблица 4.3

Зависимость уровня глюкозы в сыворотке крови больных ХВН пожилого и среднего возраста от степени полиморбидности

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
Глюкоза, ммоль/л	Средний	4,5±0,4	4,7±0,5*	9,9±0,7 <sup>#</sup>
	Пожилой	4,4±0,4 <sup>o</sup>	4,6±0,5 <sup>*,o</sup>	9,7±0,7 <sup>#,o</sup>

\*  $p > 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

#  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН;

<sup>o</sup>  $p > 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста.

Как видно из данных Таблицы 4.3, уровень глюкозы у пациентов контрольной группы среднего возраста практически не отличается от уровня, выявленного у больных ХВН ( $p > 0,05$ ). Однако при присоединении СД 2 типа достоверно ( $p < 0,05$ ) повышается примерно в 2 раза. У людей пожилого возраста наблюдается общая тенденция к более низкому уровню глюкозы в сыворотке крови по сравнению с людьми среднего возраста во всех группах испытуемых, однако эти отличия нельзя считать достоверными ( $p > 0,05$ ). Так, уровень глюкозы в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил  $4,6 \pm 0,5$  ммоль/л против  $4,4 \pm 0,4$  ммоль/л у пациентов контрольной группы ( $p > 0,05$ ), при переходе к ХВН + СД 2 типа –  $9,7 \pm 0,7$  ммоль/л, ( $p < 0,05$  по сравнению с пациентами контрольной группы и больными ХВН); у больных среднего возраста –  $4,7 \pm 0,5$  ммоль/л,  $4,5 \pm 0,4$  ммоль/л и  $9,9 \pm 0,7$  ммоль/л соответственно (Рисунок 4.3).

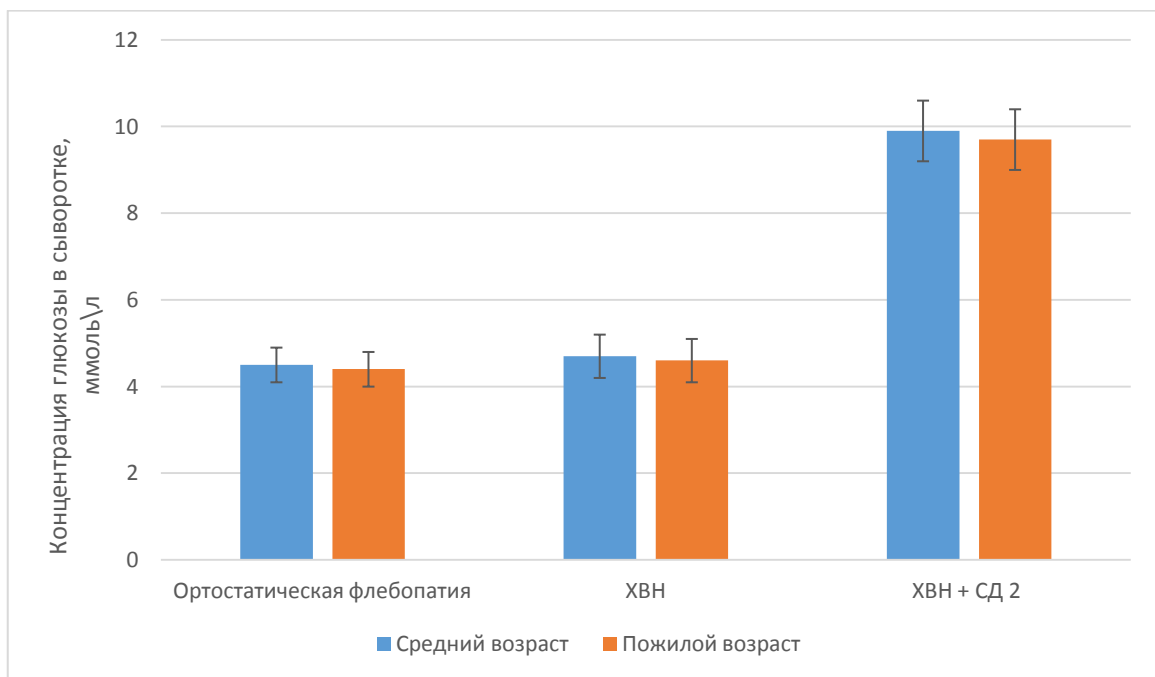


Рисунок 4.3. Зависимость уровня глюкозы в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа.

Применение фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток не выявило достоверного изменения концентрации глюкозы в сыворотке крови пациентов с ортостатической флебопатией и больных ХВН ( $p > 0,05$ ) по сравнению с уровнями до начала фармакотерапии, однако уровень глюкозы у больных ХВН с присоединенным СД 2 типа достоверно понизился ( $p < 0,05$ ) по сравнению с уровнем до начала фармакотерапии (Таблица 4.4).

Таблица 4.4

Зависимость уровня глюкозы в сыворотке крови больных ХВН от возраста и степени полиморбидности через 30 суток фармакотерапии  
МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
Глюкоза, ммоль/л	Средний	4,2±0,3	4,5±0,4*	6,4±0,6 <sup>#</sup>
	Пожилой	4,1±0,3 <sup>o</sup>	4,4±0,4* <sup>o</sup>	7,8±0,6 <sup>#, †</sup>

\*  $p > 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

<sup>#</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН;

<sup>o</sup>  $p > 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста;

<sup>†</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста.

Как видно из Рисунка 4.4, фармакотерапия в течение 30 суток комплексом МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН не влияет значимо на показатели концентрации глюкозы в сыворотке крови у пациентов контрольной группы и больных ХВН по сравнению с уровнем до начала терапии (как в среднем, так и в пожилом возрасте) ( $p > 0,05$ ). Однако такая терапия приводит к достоверному снижению уровня глюкозы при сочетании ХВН с СД 2 типа по сравнению с исходным уровнем до начала фармакотерапии ( $p < 0,05$ ) как в среднем, так и в пожилом возрасте.

Нами установлено (Таблица 4.2), что уровень ИРИ при сочетании ХВН + СД 2 типа после 30 суток терапии комплексом МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН достоверно не изменяется. Однако такая терапия приводит к достоверному снижению уровня глюкозы в сыворотке крови (Таблица 4.4). По-видимому, эти факты свидетельствуют о том, что флавоноидные компоненты препарата МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН влияют на общую концентрацию либо физико-химические характеристики инсулиноподобных веществ, которые входят в состав ИРИ и при диссоциации которых образуются пептиды, обладающие низкой биологической и высокой радиоиммунологической активностью. После курса исследуемой фармакотерапии доля этих инсулиноподобных веществ в составе ИРИ уменьшается, в то время как доля биологически активных компонентов увеличивается. Соответственно, концентрация глюкозы в сыворотке крови уменьшается на фоне неизменной концентрации ИРИ.

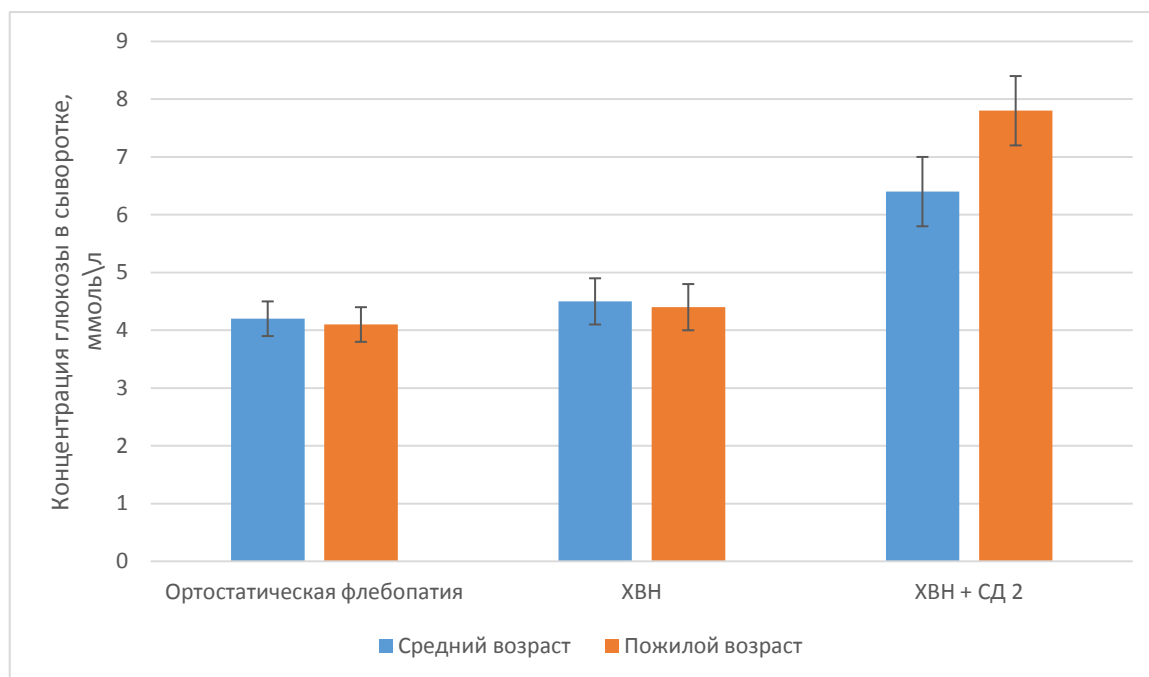


Рисунок 4.4. Зависимость уровня глюкозы в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН.

Таким образом, нами выявлен достоверный эффект снижения концентрации глюкозы в сыворотке крови больных ХВН + СД 2 типа при неизменном уровне ИРИ после 30-суточного курса фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН. С практической точки зрения этот факт может быть использован для снижения общей фармакологической нагрузки при лечении таких пациентов, уменьшения общего уровня полипрагмазии.

Важен и тот факт, что больные ХВН + СД 2 типа среднего возраста более активно реагируют на предложенный курс фармакотерапии, судя по показателю снижения уровня глюкозы в сыворотке крови. Различия в уровне этого показателя являются достоверными для людей среднего и пожилого возраста ( $p < 0,05$ ). Этот факт говорит о более высокой лабильности иммуноферментативных комплексов глюкозо-инсулиновой системы в среднем возрасте по сравнению с пожилым возрастом.

## Глава 5

### **ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОТЕРАПИИ МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ХВН И СД 2 ТИПА**

#### **5.1. Концентрация малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН**

Как известно, развитие СД 2 типа, различных воспалительных заболеваний эндотелия сопровождается свободнорадикальным (перекисным) окислением липидов (ПОЛ). Избыточное образование продуктов ПОЛ приводит к повреждению мембран и других структурных компонентов клеток организма. Продукты ПОЛ являются токсичными метаболитами и оказывают повреждающее действие на многие компоненты ферментативных комплексов организма [Васильева Е.М. и соавт., 2005]. Интенсивность ПОЛ мы оценивали путем спектрофотометрического определения концентрации в сыворотке крови основного конечного продукта ПОЛ - малонового диальдегида (МДА). Показано, что МДА может ингибировать простаглицлин [Нурмухаметова А., 1998], приводить к изменению структуры липидов и эндотелия сосудов. Перекисному окислению МДА подвергаются липиды и фосфолипиды артериальной стенки.

Нами установлено, что уровень МДА в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН существенно не отличается, однако присоединение СД 2 типа приводит к достоверному увеличению этого показателя. Результаты исследования содержания МДА в сыворотке крови представлены в Таблице 5.1.

Таблица 5.1

Зависимость уровня МДА в сыворотке крови больных ХВН пожилого и среднего возраста от степени полиморбидности

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
МДА, мкМ/л	Средний	1,60±0,15	1,80±0,16 <sup>*</sup>	2,60±0,22 <sup>#</sup>
	Пожилой	1,79±0,16 <sup>o</sup>	1,96±0,17 <sup>*,o</sup>	2,75±0,23 <sup>#,o</sup>

\*  $p > 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

<sup>#</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН;

<sup>o</sup>  $p > 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста.

Как видно из данных Таблицы 5.1, уровень МДА у пациентов контрольной группы среднего возраста практически не отличается от уровня, выявленного у больных ХВН ( $p > 0,05$ ). Однако при присоединении СД 2 типа концентрация МДА достоверно ( $p < 0,05$ ) повышается по сравнению с больными только ХВН. У людей пожилого возраста наблюдается общая тенденция к более высокому уровню МДА в сыворотке крови по сравнению с людьми среднего возраста во всех группах испытуемых, однако эти отличия нельзя считать достоверными ( $p > 0,05$ ). Так, уровень МДА в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил  $1,96 \pm 0,17$  мкМ/л против



1,79±0,16 мкМ/л у здоровых людей ( $p>0,05$ ), при переходе к ХВН + СД 2 типа – 2,75±0,23 мкМ/л, ( $p<0,05$  по сравнению с пациентами контрольной группы и больными ХВН); у больных среднего возраста - 1,80±0,16 мкМ/л, 1,60±0,15 мкМ/л и 2,60±0,22 мкМ/л соответственно (Рисунок 5.1).

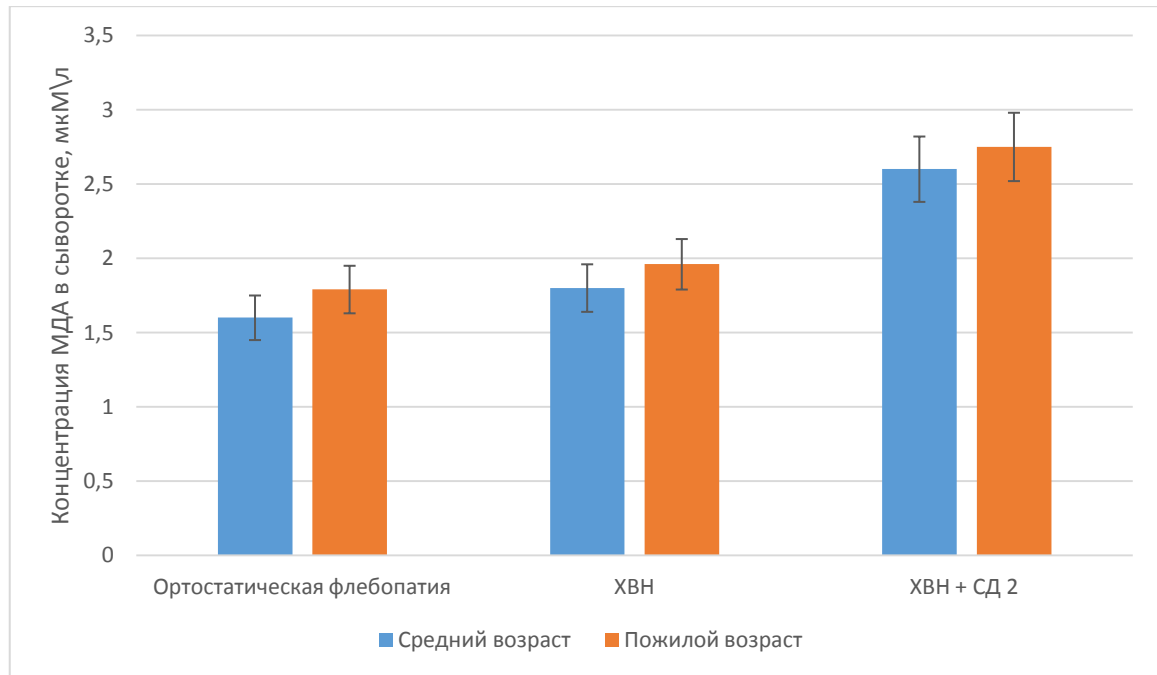


Рисунок 5.1. Зависимость уровня МДА в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа.

## **5.2. Влияние фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток на концентрацию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН**

Применение фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН в течении 30 суток привело к достоверному уменьшению концентрации МДА в сыворотке крови пациентов контрольной группы, больных ХВН и ХВН +

СД 2 типа ( $p < 0,05$ ) по сравнению с уровнями до начала фармакотерапии (Таблица 5.2).

Как видно из данных Таблицы 5.2, уровень МДА у пациентов контрольной группы среднего возраста практически не отличается от уровня, выявленного у больных ХВН ( $p > 0,05$ ). При присоединении СД 2 типа концентрация МДА остается по-прежнему близкой к уровню концентрации, выявленному у больных с ХВН ( $p < 0,05$ ).

Таблица 5.2

Зависимость уровня МДА в сыворотке крови больных ХВН от возраста и степени полиморбидности через 30 суток фармакотерапии  
МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		Контрольная группа	ХВН	ХВН + СД
МДА, мкМ/л	Средний	1,15±0,12	1,29±0,13*	1,34±0,14 <sup>#</sup>
	Пожилой	1,25±0,13 <sup>o</sup>	1,38±0,14* <sup>o</sup>	1,45±0,15 <sup>#, o</sup>

\*  $p > 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

<sup>#</sup>  $p > 0,05$  по сравнению с пациентами с ХВН;

<sup>o</sup>  $p > 0,05$  по сравнению с пациентами среднего возраста;

$p < 0,05$  по сравнению с пациентами до начала фармакотерапии.

У людей пожилого возраста наблюдается общая тенденция к более высокому уровню МДА в сыворотке крови по сравнению с людьми среднего возраста во всех группах испытуемых, однако эти отличия нельзя считать

достоверными ( $p > 0,05$ ). Так, уровень МДА в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил  $1,38 \pm 0,14$  мкМ/л против  $1,25 \pm 0,13$  мкМ/л у пациентов контрольной группы ( $p > 0,05$ ), при переходе к ХВН + СД 2 типа –  $1,45 \pm 0,15$  мкМ/л, ( $p > 0,05$  по сравнению с пациентами контрольной группы и больными ХВН); у больных среднего возраста –  $1,29 \pm 0,13$  мкМ/л,  $1,15 \pm 0,12$  мкМ/л и  $1,34 \pm 0,14$  мкМ/л соответственно (Рисунок 5.2).

Фактически фармакотерапия в течение 30 суток препаратом МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН оказывается настолько эффективной в подавлении процесса ПОЛ (судя по уровню МДВ в сыворотке крови), что даже у больных с повышенной полиморбидностью (ХВН + СД 2 типа) уровень ПОЛ достоверно не отличается от такового у людей с факторами риска таких заболеваний. При этом возрастные показатели являются несущественными: выявленная закономерность характерна как людей среднего возраста, так и для людей пожилого возраста.

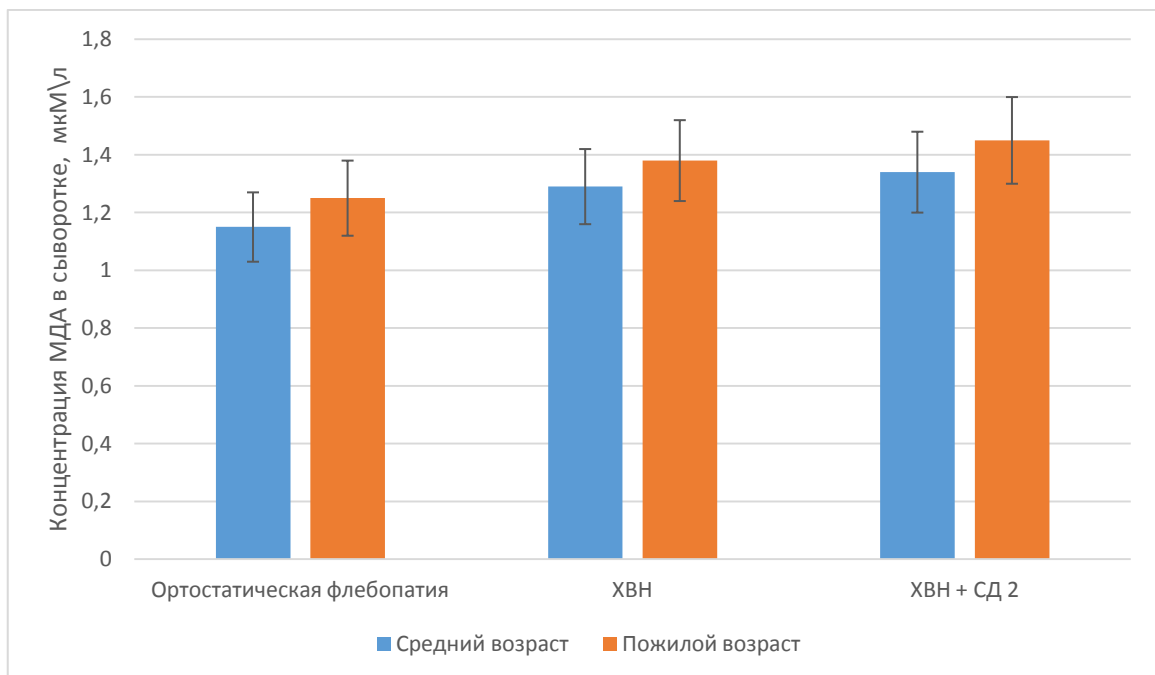


Рисунок 5.2. Зависимость уровня МДА в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа через 30 суток фармакотерапии МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН.

С практической точки зрения выявленный плейотропный эффект фармакотерапии в течение 30 суток МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН у больных, страдающих ХВН и СД 2 типа, позволяет снизить фармакологическую нагрузку при ведении пациента, более эффективно контролировать и подавлять негативные процессы ПОЛ в организме больного.

## Глава 6

### **КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ ВОЗМОЖНЫХ ПЛЕЙОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ ФАРМАКОТЕРАПИИ ХВН И СД 2 ТИПА ПРЕПАРАТОМ МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН МЕТОДАМИ ВИРТУАЛЬНОЙ ХЕМОГЕНОМИКИ**

Наиболее современным подходом к выявлению новых, ранее не известных плейотропных эффектов активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) является использование компьютерного прогнозирования биологической активности химических соединений [Филимонов Д.А., Поройков В.В., 2006]. Используя принципы виртуальной хемогеномики мы рассчитали возможные плейотропные эффекты фармакотерапии ХВН и СД 2 типа препаратом МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН, акцентируя внимание, прежде всего, на возможных противовоспалительных эффектах и подавлении активности провоспалительной системы иммунного воспаления.

Исследование проводилось методом *in silico* с помощью виртуального скрининга в сервисе прогнозирования спектра активности веществ (Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)), который базируется на алгоритме общей неограниченной взаимосвязи между структурой и активностью (General Unrestricted Structure-Activity Relationships (GUSAR)) [Филимонов Д.А., Поройков В.В., 2006; Poroikov V.V. et al., 2000, 2003]. «PASS является «инструментом» для виртуальной хемогеномики, позволяющим идентифицировать *in silico* наиболее вероятные лиганды для известных мишеней и наиболее вероятные мишени для известных лигандов, а также предсказывать эффекты, обусловленные взаимодействием конкретных лигандов с конкретными мишенями» [Поройков В. В. и соавт., 2009].

Средняя точность прогноза составляла около 95% (Leave-one-out cross-validation).

Проведен виртуальный скрининг диосмина и гесперидина. Данные, полученные при виртуальном скрининге, представлены на Рисунках 6.1 и 6.2 как оценки вероятности наличия ( $P_a$ ) и отсутствия ( $P_i$ ) активности, имеющие значения от 0 до 1. В качестве потенциально значимых биологических активностей выбраны только те, у которых  $P_a$  больше 0,5 и значительно превосходит  $P_i$  ( $P_i < 0,03$ ).

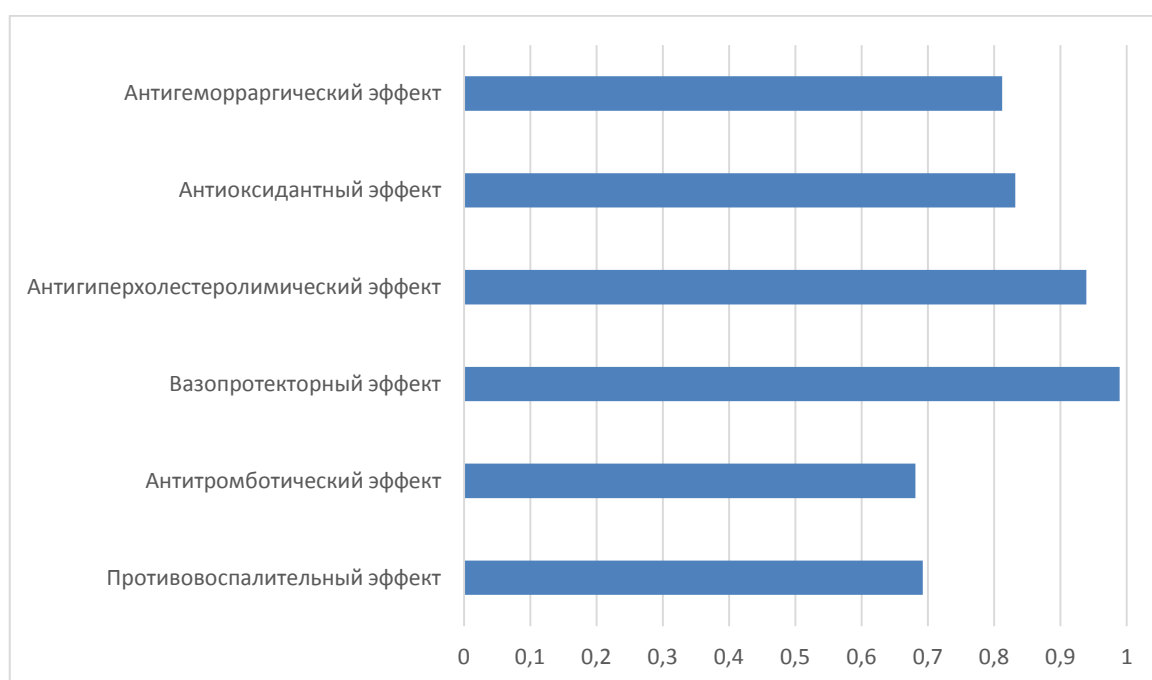


Рисунок 6.1. Избранные виды потенциальной биологической активности диосмина ( $P_a$ ).

Полученные в результате компьютерного расчета данные о потенциальной биологической активности диосмина и гесперидина, как видно из Рисунок 6.1 и 6.2, подтверждают известные и выявленные в предыдущих исследованиях антиоксидантный, антигеморрагический

эффекты. Значительный интерес в случае ХВН и присоединенного СД 2 типа представляют противовоспалительный эффект обоих АФИ и антигиперхолестеролимический эффект диосмина и гиполипемический эффект гесперидина, которые предсказываются с высокой вероятностью.

Особое значение, на наш взгляд, следует придать предсказанному плеiotропному эффекту гесперидина, как антагониста IL-6 (вероятность наличия активности составила  $P_a = 0,682$ ).

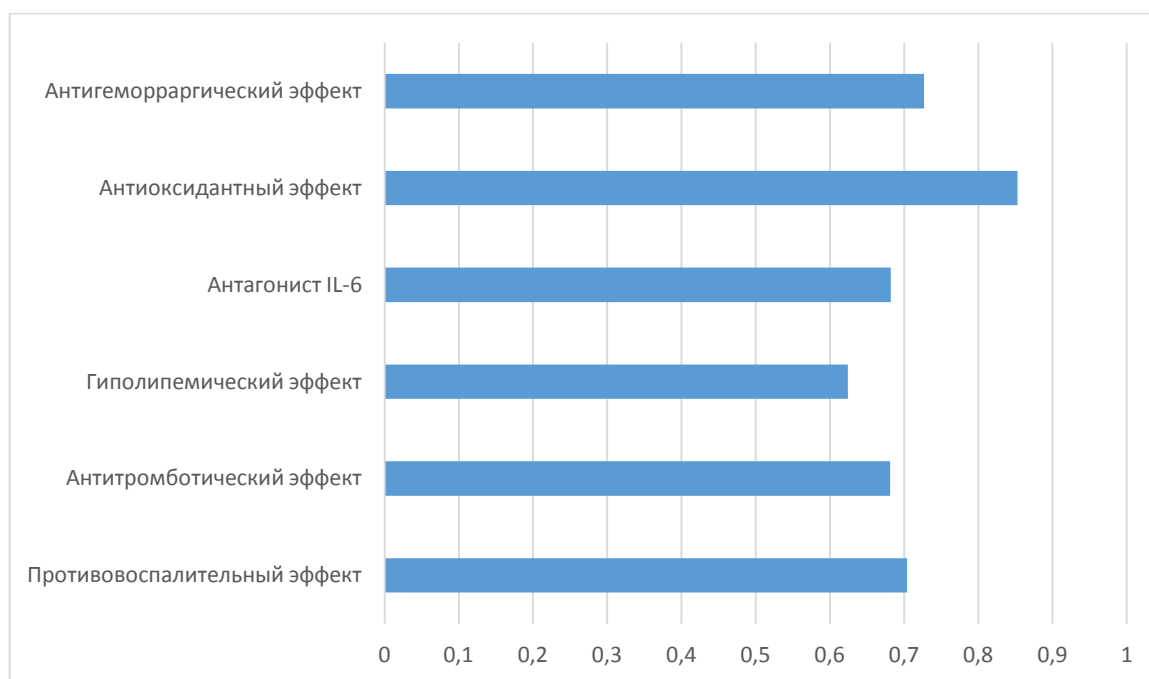


Рисунок 6.2. Избранные виды потенциальной биологической активности гесперидина ( $P_a$ ).

Это предсказание активности хорошо согласуется с полученными в нашем эксперименте данными, в соответствии с которыми уровень IL-6 в сыворотке крови при фармакотерапии ХВН в течении 30 суток препаратом МОФФ ДИОСМИН + ГЕСПЕРИДИН достоверно понижается по сравнению с уровнем до начала терапии ( $p < 0,05$ ) (Таблица 3.8, Рисунок 3.8).

Таким образом, в результате компьютерного прогноза методами виртуальной хемогеномики мы получили теоретическое обоснование некоторых полученных экспериментальных данных. Использование сервиса прогнозирования спектра активности веществ (PASS) открывает новые высокоэкономичные перспективы для выявления плеiotропных эффектов АФИ.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное комплексное изучение нейроиммуно-эндокринного статуса пожилых людей с диагнозом хронической венозной недостаточности и сопутствующей эндокринной патологией в виде сахарного диабета второго типа при использовании микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин выявило наличие у этого препарата протективных биологических плеiotропных эффектов. Важным для обеспечения фармакологической защиты организма является то, что микронизированная очищенная флавоноидная фракция диосмин+гесперидин высоко эффективна в подавлении процесса перекисного окисления липидов, что подтверждается достоверным снижением уровня малонового диальдегида в сыворотке крови по сравнению с уровнем до начала терапии до показателей, характерных для людей с риском развития хронической венозной недостаточности и сахарного диабета 2 типа. Также плеiotропные протективные эффекты микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин связаны с влиянием на систему цитокинового и интерлейкинового обмена. Это выражается в увеличении уровня интерлейкинов IL-4, IL-10 в сыворотке крови пожилых людей, являющихся противовоспалительными факторами, и уменьшении уровня фактора некроза опухолей альфа, интерлейкинов IL-6, IL-8 являющихся провоспалительными факторами. Кроме того, подтверждены данные о высокой биологической активности микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин в подавлении иммунного воспаления и эффективность при лечении хронической венозной недостаточности в пожилом возрасте в сочетании с сахарным диабетом второго типа. Плеiotропные эффекты

фармакотерапии препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин позволяют повысить эффективность проводимой параллельно противовоспалительной, сахаронормализующей и антиоксидантной фармакотерапии. Таким образом, полученные результаты можно использовать для снижения фармакологической нагрузки на организм пожилых больных, страдающих хронической венозной недостаточностью как компонента полиморбидной патологии.

## ВЫВОДЫ

1. У больных пожилого возраста с хронической венозной недостаточностью при присоединении сахарного диабета второго типа наблюдается повышение напряженности нейроиммуноэндокринного статуса по сравнению с больными среднего возраста, что проявляется повышением уровня фактора некроза опухолей альфа в сыворотке крови на 12,2%, провоспалительных интерлейкинов IL-1, IL-2, IL-6 соответственно на 12,3%, 22,1% и 18,2%.

2. Патогенетически обоснованным выбором терапии хронической венозной недостаточности является фармакотерапия препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин, т.к. она приводит к достоверному снижению уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови, в частности фактора некроза опухолей альфа, у людей среднего и пожилого возраста соответственно на 19,6% (со 109,0 пг/мл до 92,1 пг/мл) и на 26,3% (со 105,6 пг/мл до 75,0 пг/мл), причем этот эффект сохраняется и у больных с сопутствующим сахарным диабетом второго типа.

3. Фармакотерапия препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин в течении 30 суток приводит к достоверной активации противовоспалительного звена иммунной системы организма как у пожилых людей, страдающих хронической венозной недостаточностью, так хронической венозной недостаточностью в сочетании с сахарным диабетом второго типа, о чем свидетельствует увеличение концентрации интерлейкина IL-4 в сыворотке крови с 5,0 пг/мл до 9,5-15,5 пг/мл и интерлейкина IL-10 с 1,4 до 3,4-7,0 пг/мл.

4. При фармакотерапии препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин достигается протекция базисной сахароснижающей терапии за счет модуляции физико-химических характеристик инсулиноподобных веществ, которые входят в состав иммунореактивного инсулина, при этом уровень самого иммунореактивного инсулина остается стабильным в пределах 4,4-6,5 мкЕД/мл.

5. Важным биологическим плеiotропным эффектом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин является обеспечение антиоксидантной защиты у пожилых больных, страдающих хронической венозной недостаточности в сочетании с сахарным диабетом второго типа, что подтверждается нормализацией концентрации малонового диальдегида в сыворотке крови с уровня в 2,75 мкМ/л до уровня в 1,79 мкМ/л, соответствующим таковому у людей с риском развития таких заболеваний.

6. Полученные в результате компьютерного расчета данные о потенциальной биологической активности диосмина и гесперидина позволяют с высокой долей вероятности прогнозировать противовоспалительный эффект диосмина и гесперидина, антигиперхолестеролиемический и гиполипемический эффект гесперидина, которые предсказываются с высокой вероятностью, а также плеiotропный эффект гесперидина, как антагониста интерлейкина-6 (вероятность наличия активности  $P_a = 0,682$ ), что подтверждается с полученными в нашем исследовании данными, в соответствии с которыми уровень интерлейкина-6 в сыворотке крови при фармакотерапии микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин достоверно снижается.

7. Выявленные биологические плейотропные эффекты фармакотерапии препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин, связанные с протективным влиянием на оксидантный, цитокиновый, интерлейкиновый и обменный статус способствуют повышению эффективности проводимой параллельно противовоспалительной, сахаронормализующей и антиоксидантной фармакотерапии и могут быть использованы для снижения фармакологической нагрузки на организм пожилых больных, страдающих хронической венозной недостаточностью как компонента полиморбидной патологии.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При разработке программ фармакотерапии больных пожилого возраста с хронической венозной недостаточностью следует учитывать возникающий при развитии синдрома полиморбидности нейроиммуноэндокринный дисбаланс, при этом патогенетически обоснованным является препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин.

2. Плейотропные эффекты препаратом микронизированной очищенной флавоноидной фракции диосмин+гесперидин можно использовать для снижения фармакологической нагрузки на организм пожилых больных, страдающих хронической венозной недостаточностью в сочетании с сахарным диабетом второго типа, и повышения эффективности базисной фармакотерапии.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

<b>МОФФ</b>	Микронизированная очищенная флавоноидная фракция
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Фактор некроза опухоли $\alpha$
<b>IL-2 (4, 6, 8, 10)</b>	Интерлейкины 2, 4, 6, 8, 10
<b>ИМТ</b>	Индекс массы тела
<b>ИБС</b>	Ишемическая болезнь сердца
<b>МДА</b>	Малоновый диальдегид
<b>ЛС</b>	Лекарственные средства
<b>ПОЛ</b>	Перекисное окисление липидов
<b>НПВП</b>	Нестероидные противовоспалительные препараты
<b>АФИ</b>	Активный фармацевтический ингредиент
<b>СД 2</b>	Сахарный диабет второго типа
<b>ИФА</b>	Иммуноферментный анализ
<b>ХВН</b>	Хроническая венозная недостаточность
<b>ИРИ</b>	Иммунореактивный инсулин

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамченко В.В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве. (Оксидативный стресс в акушерстве и его терапия антиоксидантами и антигипоксантами) / В. В. Абрамченко СПб.: Изд-во ДЕАН, 2001. - 400 с.
2. Арльт А.В. Биологическая активность растительных источников флавоноидов / А.В.Арльт, М.Н.Ивашев, Ю.Н.Мокин и др. // Фармация. - 2006. - N 3. - С. 36-37.
3. Балаболкин М. И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова // Проблемы эндокринологии. 2000. - №6. - С. 29-34.
4. Басов А. А. Сравнительная характеристика антирадикальной активности различных классов антиоксидантных средств в условиях окислительного стресса: автореф. дис. канд. мед. наук: 03.00.04. / А.А. Басов.- Ростов-на-Дону, 2007. 22 с.
5. 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 сосудистая хирургия. - 2013. - N 1 - С. 73-81.
6. Бок Сонг Хае. Биофлавоноиды в качестве агента, снижающего уровень глюкозы в крови / Сонг Хае Бок, Соок Тае Дзеонг и др. // Патент RU 2203050.
7. Васильева Е.М. Биохимические изменения при неврологической патологии / Е.М. Васильева, М.И. Баканов // Биомедицинская химия. - 2005. - Т. 51, вып. 6. - С. 581-602.
8. Венгеровский А.И. Улучшение биоэнергетики печени гепатопротекторами при экспериментальном ингибировании Р-



- окисления жирных кислот / А.И. Венгеровский, В.А. Хазанов, М.С. Тимофеев // Вопр. биологич., мед. и фармац. химии.- 2007.- №4.- С.31-34.
9. Венгеровский А.И. Энтеросорбенты усиливают гепатозащитное действие эплира при экспериментальном токсическом гепатите/ А.И. Венгеровский и др. // Эксперим. и клинич. фармакология.- 2001.- Т.64, №1.- С.46-48.
  10. Виноградова Т.А. Практическая фитотерапия / Т.А.Виноградова, Б.Н.Гажев, В.М. Виноградов и др. М.:Эксмо-Пресс, 2001. - 638 с.
  11. Гайворонская В. В. Влияние бемитила, этомерзола и яктона на процессы регенерации печени после частичной гепатэктомии / В. В. Гайворонская, С. В. Оковитый, А. В. Смирнов // Эксперим. и клинич. фармакология. -2000. Т.63, №5. - С. 34-36.
  12. Голиков А.П. Эффективность цитопротектора мексикора в неотложной кардиологии / А. П. Голиков и др. // Терапевт, арх. 2004. - Т.76, №4. - С. 60-65.
  13. Горелик С.Г. Варикозная болезнь нижних конечностей, особенности у лиц старших возрастных групп / С.Г. Горелик, А.В. Литынский, П.И.Поляков // Фундаментальные исследования. - 2012. - №5. - С. 276-280.
  14. Дадали В. А. Неантиоксидантные биологические функции флавоноидов / В. А. Дадали, Ю. В. Дадали // Нац. науч-практич. конф. с междунар. участием (5; 2007; Смоленск): материалы. Смоленск, 2007. - С. 24-26.
  15. Доркина Е. Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоно-идных соединений / Е. Г. Доркина // Эксперим. и клинич. фармакология. -2004.-№6. -С. 41-44.
  16. Доркина Е.Г. Влияние биофлавоноидов на перекисное окисление липидов и антиокси-дантные системы печени крыс при остром

- алкогольном отравлении / Е. Г. Доркина и др. // Вестн. Волгоград, мед. ун-та. 2007. - Т.23, №3. - С.50-52.
17. Доркина Е.Г. Гепатозащитное действие цветков бархатцев/ Е.Г. Доркина и др. // Фармация.- 2004. - №2. - С.33-35.
  18. Доркина Е.Г. Изучение гепатозащитного действия суммарного флавоноидного комплекса из цветков *Tagetes patula* / Е.Г. Доркина и др. //Регион, конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров (Пятигорск, 2002;): материалы.- Пятигорск, 2002.- С. 159-161.
  19. Загидуллин Ш.З. Значение дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистых заболеваниях и методы ее медикаментозной коррекции / Ш.З. Загидуллин и др. // Кардиология. - 2010. №5. - С.54-60.
  20. Зборовская И. А. Ревматические болезни и антиоксидантная система / И. А. Зборовская М.: Медицина, 2005. - 127 с.
  21. Калянова Н.А. Особенности нарушения процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при острых отравлениях психотропными, снотворными препаратами / Н.А. Калянова // Токсикол. вестн.- 2002.- №6.- С.18-22.
  22. Картавенко В.И. Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой / В.И. Картавенко и др. // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 2004, № 4. - С. 8-10.
  23. Кириенко А.И. Полусинтетический диосмин (Флебодиа 600) в лечении хронической венозной недостаточности нижних конечностей / А.И. Кириенко, В.Ю. Богачев, И.А. Золотухин, О.В. Голованова // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2006. - Т. 12, № 2. - С. 73-75.
  24. Климкина Е. И. Экспериментальное изучение гепатопротекторных свойств антиоксидантов / Е. И. Климкина, В. Е. Новиков, Л. А.

- Ковалева // Методологические и медико-психологические аспекты здорового образа жизни. Смоленск: Универсум, 2004. - С. 34-38.
25. Коноплева М.М. Фармакогнозия: Природные биологически активные вещества: Учебное пособие. Витебск: ВГМУ, 2002. - 21 с.
26. Крикова А.В. Влияние диосмина и гесперидина на морфо-функциональное состояние миокарда крыс при остром стрессорном воздействии / А.В.Крикова, В.Е. Новиков, А.С. Новиков // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2011. - № 3. - С.61-64.
27. Крикова А.В. Эффективность диосмина и гесперидина при стрессе у крыс // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2007. - № 2. - С. 45-47.
28. Макарова М. Н. Биодоступность и метаболизм флавоноидов // Экстремальная и клиническая фармакология. – 2011. – Том 74, №6. – С. 33-40.
29. Марков Х.М. Оксид азота и атеросклероз. Оксид азота, дисфункция сосудистого эндотелия и патогенез атеросклероза / Х.М. Марков // Кардиология. -2009. №11. - С.64-74.
30. Мещинен И.Ф. Влияние этония на состояние глутатионовой системы печени при токсическом гепатите./ И.Ф. Мещинен// Фармакология и токсикология. 1989.- №3.- С.80-82.
31. Мозес В.Г. Эффективность детралекса при консервативном лечении варикозного расширения вен малого таза у женщин / В.Г. Мозес // Фарматека. - 2005. - № 16. - С.48-51.
32. Новиков В.Е. Стресспротекторные свойства синтетических и растительных антиоксидантов / В.Е. Новиков, Н.О.Крюкова, А.В. Крикова и др.// Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химиию - 2011. - № 9. - С.40-43.
33. Нурмухаметова А. Клеточная терапия семейной гиперхолестеринемии и гиперлипопротеинемии 3 типа / А.

- Нурмухаметова // Русский медицинский журнал. - 1998. - № 6, т. 3. - С. 51-59.
34. Пауков В.С. Пато- и морфогенез алкогольной болезни / В.С. Пауков // Бюл. эксперим. биологии и медицины, - 1996.- Т. 122.- С.604-610.
35. Поройков В. В. Компьютерное предсказание Биологической активности химических веществ: виртуальная хемогеномика / В.В. Поройков, Д.А. Филимонов, Т.А. Глориозова, А.А. Лагунин, Д.С. Дружиловский, А.В. Степанчикова // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2009. - Т. 13, № 1. - С. 137-143.
36. Полунина Т. Е. Лекарственные поражения печени / Т. Е. Полунина // Леч. врач.-2005.-№3.- С.69-72.
37. Растения для нас: Справочное издание. Под ред. Г.П. Яковлева, К.Ф. Блиновой. СПб: Учебная книга, 1996. - 653 с.
38. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен нижних конечностей // Флебология. - 2009. - Т.3, №3. - С. 45–93.
39. Сабельников В.В., Шулепова Е.К. Варикозная болезнь нижних конечностей. Современный взгляд на проблему // Мир медицины. – 2001. – №3–4. - С. 8-15.
40. Савельев В.С. Микронизированный диосмин (детралекс®) при лечении трофических язв венозной этиологии - европейский опыт / В.С. Савельев, А.В. Покровский, С.В. Сапелкин и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2006. - Т. 12, № 3. - С. 53-60.
41. Саратиков А.С. Гепатопротективные свойства лохеина (экстракта *Salsola collina* Pall.) / А. С.Саратиков и др. // Раст. ресурсы.- 2004.- Вып. 2.- С. 133-138.
42. Сергеева Е.О. Антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие природных флавоноидов при остром экспериментальном тетрахлорметановом гепатозе / Е.О. Сергеева, Е.Г. Доркина и др. //

- Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч тр - Пятигорск, 2005. - Вып 60 - С. 336 - 338.
43. Сергеева Е.О. Гепатозащитное действие ангиопротекторов флавоноидной природы / Е.О. Сергеева, Е.Г. Доркина и др. // Рос журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии - 2005 (Прилож №24) - Т. 15. - С. 100.
44. Сергеева Е.О. Изменение некоторых биохимических показателей у крыс при остром алкогольном отравлении и действии флавоноидов / Е.О. Сергеева, Е.Г. Доркина, Э.Т. Оганесян и др. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции, сб. науч тр - Пятигорск, 2006. -Вып 61. - С 347 - 349.
45. Слиецанс А.А. Изучение влияния гесперидина на вазодилатирующую функцию церебральных сосудов у животных с эндотелиальной дисфункцией на фоне экспериментального сахарного диабета / А.А. Слиецанс, А.В. Воронков, Е.В. Петрова // V Международная (XIV Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых: материалы... - Москва, 2010 г.- С. 552.
46. Слиецанс А.А. Изучение антитромботической активности диосмина как компонента его эндотелиопротективного действия у животных с экспериментальным сахарным диабетом / А.А. Слиецанс, Е.В. Петрова, А.В. Воронков, А.И. Робертус // II Всероссийский научно-практический семинар для молодых ученых "Методологические аспекты экспериментальной и клинической фармакологии": материалы... -Волгоград, 2010. - С. 108-109.
47. Тюренков И.Н. Оценка функционального состояния эндотелия по изменению сосудистой вазодилатации и показателям свертываемости крови у животных с экспериментальным сахарным диабетом / И.Н. Тюренков, А.В. Воронков, Е.В. Петрова, А.А.

- Слиецакс // Научная конференция "Актуальные вопросы фармакологии и фармации": сб.науч.тр. - Курск, 2009. - С.336-338.
48. Тюренокв И.Н. Зависимость между антиоксидантным действием флавоноидов и их влиянием на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях эндотелиальной дисфункции / И.Н. Тюренокв, А.В. Воронков, А.А. Слиецакс, Е.В. Петрова, Е.Г. Доркина // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2010. - Т. 73, №10. -С.14-17.
49. Тюренокв И.Н. Изучение влияния гесперидина на эндотелиальную функцию животных с экспериментально вызванным сахарным диабетом / И.Н. Тюренокв, А.В. Воронков, А.А. Слиецакс, Е.Г. Доркина // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. - 2009.- №1. - С. 19-21.
50. Тюренокв И.Н. Эндотелиальная дисфункция при экспериментальном сахарном диабете и возможность ее коррекции флавоноидами / И.Н. Тюренокв, А.В. Воронков, А.А. Слиецакс, Е.Г. Доркина // VIII съезд кардиологов Южного Федерального округа «Совершенствование оказания медицинской помощи больным с сердечнососудистыми заболеваниями - новые подходы и перспективы»: материалы... -Ростов-на-Дону, 2009. - С. 199-200.
51. Филимонов Д.А. Прогноз спектра биологической активности органических соединений / Д.А. Филимонов, В.В. Пороиков // Рос. хим. журн. – 2006. – Т. 50, № 2. – С. 66-75.
52. Шанин Ю. Н. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия проведения) / Ю. Н. Шанин, В. Ю. Шанин, Е. В. Зиновьев СПб: Элби-СПб., 2003. - 128 с.

53. Шварц В. Воспаление как фактор патогенеза инсулинорезистентности и сахарного диабета 2 типа / В. Шварц // Терапевт, арх. 2009. - № 10. - С.74-80.
54. Шварц В. Значение постпрандиальной гипергликемии в развитии сердечно-сосудистых заболеваний при сахарном диабете 2 типа / В.Шварц // Клинич. медицина. 2009. - N 11. - С. 17-24.
55. Шибельгут Н. М. Эффективность диосмина 600 мг при проведении профилактики прогрессирующего течения варикозной болезни вен малого таза у беременных: результаты простого слепого рандомизированного плацебо-контролируемого исследования / Н.М. Шибельгут, Т.Б. Баскакова, И.С. Захаров, В.Г. Мозес // Российский вестник акушера-гинеколога. - 2010. - Т. 10, № 3. - С.26-31.
56. Шилов А. М. Антигипоксанты и антиоксиданты в кардиологической практике / А. М. Шилов // Рус. мед. журн. 2004. - Т. 12, №2. - С. 112-114.
57. Шульпекова Ю. О. Флавоноиды расторопши пятнистой в лечении заболеваний печени / Ю. О. Шульпекова // Рус. мед. журн. 2004. - Т. 12, №5. -С. 248-250.
58. Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента RLSNET.RU. Гесперидин. Интернет-ресурс. Режим доступа: [http://www.rlsnet.ru/mnn\\_index\\_id\\_2273.htm](http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2273.htm) (дата обращения 25.05.2014).
59. Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента RLSNET.RU. Диосмин. Интернет-ресурс. Режим доступа: [http://www.rlsnet.ru/mnn\\_index\\_id\\_2272.htm](http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2272.htm) (дата обращения 25.05.2014).

60. Aeschbacher H.-U. Nonmutagenicity in vivo of the food flavonol quercetin / H.- U. Aeschbacher, H.Meier, E.Ruch // *Nutr Cancer*. - 1982. - Vol. 4. P. 90–98.
61. Allaert F.A. Meta-analysis of the effect of the main venoactive drugs on venous-origin malleolar edema. Abstract presented at the European Chapter Meeting of the UIP, Prague, Czech Republic. September 2011. - P. 14–17.
62. Amanda J. In vivo regulation of endothelium-dependent vasodilation in the rat renal circulation and the effect of streptozotocin-induced diabetes / J. Amanda et al. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2008. - Vol.295. - P.829-839.
63. Bergan J. Chronic venous disease / J.Bergan, G.W.Schmid-Schonbein, Ph. Coleridge Smith et al. // *N Engl J Med*. - 2006. - Vol. 355. - P. 488–498.
64. Bergan J. Pathogenesis of primary chronic venous disease: Insights from animal models of venous hypertension / J.Bergan, L.Pascarella, G.W. Schmid-Schonbein // *J Vasc Surg*. - 2008. - Vol. 47, no.1. - P. 183–192.
65. Camuesco D. The intestinal anti-inflammatory effect of quercetin is associated with an inhibition in NOS expression / D. Camuesco et al. // *Br. J. Pharmacol.* 2004. - Vol.143. - P.908-918.
66. Clemetson C.A.B. Bioflavonoids, in *Vitamin C*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc., 1989. - P. 101–128.
67. Colerige Smith P.D. Drug treatment of varicose veins, venous edema, and ulcers. In: Gloviczki P., editor. *Handbook of venous disorders: guidelines of the American venous Forum*. 3rd ed. London, UK: Hodder Arnold, 2009. - P. 359–365.
68. Colerige-Smith P. Venous leg ulcer: a meta-analysis of adjunctive therapy with micronized purified flavonoid fraction / P.Colerige-Smith,



- C.Lok, A.-A. Ramelet // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* - 2005. - Vol. 30. - P. 198–208.
69. Danziger N. Pathophysiology of pain in venous disease // *J Mal Vasc.* - 2007. - Vol. 32. - P. 1–7.
70. Ding, H. Endothelial dysfunction in diabetes: multiple targets for treatment / H.Ding // *Pflugers. Arch.* 2010. - Vol.459, № 6. - P.977-94.
71. Djordjevic M.A. Clovers secrete specific phenolic compounds which either stimulate or repress nod gene expression in *Rhizobium trifolii* / M.A. Djordjevic, J.W.Redmond, M.Batley et al. // *EMBO J.* - 1987. - Vol. 6. - P. 1173–1179.
72. Eckberg W.R. Inhibition of gamete membrane fusion in the sea urchin by quercetin / W.R. Eckberg, M.E.Perotti // *Biol Bull.* - 1983. - Vol. 164. - P. 62–70.
73. Firmin J.L. Flavonoid activation of modulation genes in *Rhizobium* reversed by other compounds present in plants / J.L. Firmin, K.E.Wilson, L.Rossen et al. // *Nature.* - 1986. - Vol. 324. - P. 90–92.
74. Goldman M., Guex J.-J., Weiss R., et al. Sclerotherapy. Treatment of varicose and telangiectatic leg veins, 5<sup>th</sup> edition. N.Y.: Elsevier Saunders, 2011. - 401 p.
75. Havsteen B. Flavonoids: A class of natural products of high pharmacological potency // *Biochem Pharmacol.* - 1984. Vol. 32. - P. 1141–1148.
76. Henriot J.-P. Insuffisance veineuse fonctionnelle: essai clinique comparatif d'une seule prise par jour de Diovenor 600 mg (600 mg de diosmine d'hémisynthèse) versus 2 prises par jour d'un mélange de 500 mg de flavonoïdes (900 mg de diosmine) // *Phlebologie.* - 1995. - Vol. 48, no. 2. - P. 2–7.
77. Hertog M. G. L. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study / M.G.L. Hertog, D.

- Kromhout, C. Aravanis et al. // Arch Intern. - 1995. - Med 155. - P. 381–386.
78. Hertog M.G.L Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands / M.G.L. Hertog, P.C.H. Hollman, M.B. Katan et al. // Nutr Cancer. - 1993. - Vol. 20. - P. 21–29.
79. Hertog M.G.L. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands / M.G.L.Hertog, P.C.H. Hollman, M.B. Katan // J Agric Food Chem. - 1992. - Vol. 40. - P. 2379–2383.
80. Hirata A. Kinetics of radical- scavenging activity of hesperetin and hesperidin and their inhibitory activity on COX-2 expression / A. Hirata et al. // Anticancer Res. 2005. - Vol.25, N.57. - P.3367-3374.
81. Hwang J.M. Protective effects of baicalein on tert-butyl hydroperoxide-induced rat hepatotoxicity / J.M. Hwang et al. // Arch. Toxicol. 2005. - Vol.79, N.2. - P. 102-109.
82. Hyun S. In vitro peroxynitrite scavenging activity of 6-hydroxykynurenic acid and other flavonoids from Gingko biloba yellow leaves / S. Hyun et al. // Arch. Pharm. Res.- 2006.- Vol.29, N.12.- P.1074-1079.
83. Jantet G. Chronic venous insufficiency: worldwide results of the RELIEF study // Angiology. - 2002. - Vol.53. - P. 245–256.
84. Kakkos S., Perrin M., Cutting K. Conservative Treatment: Medical/Drug therapies: in book Venous and Lymphatic Diseases. Edited by Labropoulos N., Stansby G. N.Y.: Taylor & Francis, 2006. P. 257–270.
85. Kandaswami C., Middleton E. Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids, in Free Radicals in Diagnostic Medicine. New York: Plenum Press, 1994. - P. 351–376.

86. Kim A. Flavonoids differentially modulate nitric oxide production pathways in lipopolysaccharide-activated RAW264,7 cells / A. Kim et al. // Arch. Pharm. Res.- 2005.- Vol.28, N.3.- P.297-304.
87. Kleinjnen J. Ginkgo biloba / J.Kleinjnen, P.Knipschild // Lancet. - 1992. - Vol. 340. - P. 1136–1139.
88. Labrid C. Pharmacologic properties of Daflon 500 mg / C. Labrid // Angiology. 1994. -Vol. 45, N.6 Pt.2. - P.524-530.
89. Lahouel M. The interaction of new plant flavonoids with rat liver mitochondria: relation between tue anti- and pro-oxydant effect and flavonoids concentration / M. Lahouel et al. 11 Therapie. - 2006.-Vol.61, N.4.- P.347-355.
90. Levy R. The effect of prenatal exposure to the phytoestrogen genistein on sexual differentiation in rats / R.Levy, K.A. Faber., L. Ayyash et al. // Proc Soc Exp Biol Med. - 1995. - Vol. 208. - P. 60–66.
91. Lyseng-Williamson K.A. Micronised Purified Flavonoid Fraction. A Review of its Use in Chronic Venous Insufficiency, Venous Ulcers and Haemorrhoids / K.A. Lyseng-Williamson., C.M. Perry // Drugs. - 2003. - Vol. 63, no1. - P. 71–100.
92. Mabry TJ and Mabry H eds), London: Chapman and Hall, Ltd., 1975.- P. 109–1129.
93. Martinez M.J. Phlebotonics for venous insufficiency / M.J Martinez., X. Bonfill, R.M.Moreno et al. // Cochrane Database Syst Rev. - 2005. - CD003229.
94. McClure J.W. Physiology of flavonoids in plants, in Plant Flavonoids in Biology New York: Alan R. Liss, Inc., 1986. - P. 77–85.
95. Middleton E. Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell function / E.Middleton, C.Kandaswami // Biochem Pharmacol. - 1992. - Vol. 43. - P. 1167–1179.

96. Nass-Arden L. Modulation of mammalian sperm motility by quercetin / L.Nass-Arden, H. Breitbart // *Mol Reprod Dev.* - 1990. - Vol. 25. - P. 369–373.
97. Nicolaidis A. Management of Chronic Venous Disorders of the Lower Limbs: Guidelines According to Scientific Evidence / A.Nicolaidis, C.Allegra, J.Bergan et al. // *Int Angiol.* - 2008. - Vol. 27, no. 1. - P. 1-59.
98. Pari L. Preventive effect of diosmin, a bioflavonoid, on glycoprotein changes in streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetic rats / L. Pari, S. Srinivasan, M. Saddiq // *IJPSR.* - 2010. - Vol. 1, no.10. - P. 89-95.
99. Pascarella L. Essential of Daflon 500 mg: From early valve protection to long-term benefits in the management of chronic venous disease // *Current Pharmaceutical Design.* - 2007. - Vol.13, no.4. - P. 431–444.
100. Pautler E.L. A pharmacologically potent natural product in the bovine retina / E.L.Pautler, J.A Maga., C. Tengerdy // *Exp Eye Res.* - 1986. - Vol. 42. - P. 285–288.
101. Perrin M. Pharmacological Treatment of Primary Chronic Venous Disease: Rationale, Results and Unanswered Questions / M.Perrin, A.-A. Ramelet // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* - 2011. - Vol. 41. - P. 117–125.
102. Peter C.H. Hollman. Absorption, Bioavailability, and Metabolism of Flavonoids // *Pharmaceutical Biology.* – 2004. - Vol. 42. – P. 74-83.
103. Peters N.K. A plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes / N.K.Peters, J.W. Frost, S.R. Long // *Science.* - 1986. - Vol. 233. - P. 978–980.
104. Pokrovsky A.V. Surgical correction of varicose vein disease under micronized diosmin protection (results of the russian multicenter controlled trial defans) / A.V. Pokrovsky, B.S.Saveljev, A.I.Kirienko et

- al. // *Ангиология и сосудистая хирургия*. - 2007. - Т. 13, № 2. - С. 47-55.
105. Poroikov V.V. Robustness of biological activity spectra predicting by computer program pass for noncongeneric sets of chemical compounds / V.V. Poroikov, D.A. Filimonov, Y.V. Borodina, A.A. Lagunin, A. Kos // *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. - 2000. - Vol. 40. № 6. - P. 1349-1355.
106. Poroikov V.V. Pass biological activity spectrum predictions in the enhanced open nci database browser / V.V. Poroikov, D.A. Filimonov, T.A. Glorizova, A.A. Lagunin, Y.V. Borodina, A.V. Stepanchikova, W.D. Ihlenfeldt, M.C. Nicklaus// *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. - 2003. - Vol. 43. № 1. - P. 228-236.
107. Havsteen B. Flavonoids: A class of natural products of high pharmacological potency // *Biochem Pharmacol*. - 1984. - Vol. 32. - P. 1141–1148.
108. Potenza M.A. Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets / M.A. Potenza et al. // *Curr. Med. Chem*. 2009. - №16. - P.94-112.
109. Puppo A. Effect of flavonoids on hydroxyl radical formation by fenton-type reactions; influence of the iron chelator / A. Puppo // *Phytochemistry*. 1992. - Vol.31, N.1. - P.85-88.
110. Ramelet A.-A. Daflon 500mg: symptoms and edema clinical update // *Angiology*. - 2005. - Vol. 56. - P. 5–32.
111. Ramelet A.-A. Veno-active drugs in the management of chronic venous disease. An international consensus statement: current medical position, prospective views and final resolution / A.-A. Ramelet, M.R. Boisseau, C.Allegra et al. // *Clin Hemorheol Microcirc*. - 2005a. - Vol. 33, no.4.- P. 309–319.

112. Ramelet A.-A. Veno-active drugs in the management of chronic venous disease. An international consensus statement: Current medical position, prospective views and final resolution / A.-A. Ramelet, M.R. Boisseau, C.Allegra // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. - 2005b. - Vol.33. - P. 309 – 319.
113. Ramelet A.-A., Perrin M., Kern P., Bounameaux H. *Phlebology*, 5-th edition. N.Y.: Elsevier Masson, 2008. - 566 p.
114. Ross Julie A.. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety / Julie A. Ross, Christine M. Kasum // *Annu. Rev. Nutr.* – 2002. – Vol. 22. – P. 19-34.
115. *Rutherford's Vascular Surgery, 7th Edition* edited by Cronenwett J., Johnston K. N.Y.: Elsevier Saunders, 2010. - 448 p.
116. Scalbert A. Dietary intake and bioavailability of polyphenols / A. Scalbert, G. Williamson // *J. Nutr.* 2000. - Vol.130, N.8S. - P.2073S-2085S.
117. Smith D.A. and Banks S.W. Formation and biological properties of isoflavonoid phytoalexins in Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, cellular and medicinal properties (Cody V., Middleton E.I., Harborne J.B eds.). New York: Alan R. Liss Inc., 1988. - 113 p.
118. Swain T. Evolution of flavonoid compounds, in *The Flavonoids* London: Chapman and Hall, Ltd., 1975. - P. 109–1129.
119. Versari D. Endothelial dysfunction as a target for prevention of cardiovascular disease / D. Versari et al. // *Diabetes Care*. 2009. - Vol.32. - P.314-21.
120. Vital A. Evidence for unmyelinated C fibers and inflammatory cells in human varicose saphenous vein / A.Vital, D.Carles, J-M.Serise, M.R. Boisseau // *Int J Angiol.* - 2010. - Vol. 19, no. 2. - P. 73–77.