

Глава 1

Обзор литературы

1.1. Эндотелиальная дисфункция и ее значение при венозной патологии

Эндотелий — монослой эпителиальных клеток мезенхимального происхождения, находящийся на границе между кровотоком и более глубокими слоями сосудистой стенки. Помимо барьерной функции, эндотелий выполняет роль мощного паракринного органа, играющего важную роль в поддержании сосудистого гомеостаза, тонуса и анатомической структуры сосудистой стенки [10, 19, 23, 39].

Эндотелиальная дисфункция — дисбаланс между медиаторами, обеспечивающими в норме оптимальное течение всех эндотелийзависимых процессов [10, 20]. В трактовке Endermann D.H., ЭД — патологическое состояние эндотелия, которое сопровождается преобладанием процессов вазоконстрикции и усилением синтеза веществ, обладающих провоспалительными и протромботическими свойствами [98]. В физиологических условиях эндотелий обеспечивает адекватную вазодилатацию, угнетает активацию и адгезию тромбоцитов, снижает прокоагулянтные свойства крови и активность воспалительных про-

цессов, в основе которых лежит активация и адгезия лейкоцитов [73, 149, 152]. Наиболее вероятными механизмами развития ЭД являются: повреждение эндотелиальных клеток (ЭК) в условиях оксидативного стресса и ишемического повреждения, гипергомоцистеинемия, активация локального иммунного ответа, формирование провоспалительного статуса, нарушение процессов вазоконстрикции и вазодилатации вследствие снижения продукции и/или биодоступности NO [23, 39, 59, 68, 87, 88, 108, 146, 151, 194, 217, 237].

По данным Киричук В.Ф. и Глыбочко А.И., ЭД в своем развитии претерпевает следующие стадии [10]:

- нарушение синтетической функции эндотелия;
- нарушение баланса между секретируемыми медиаторами с последующими функциональными нарушениями;
- морфологические изменения, истощение эндотелия, повреждение, гибель эндотелиоцитов, нарушение процессов регенерации клеток.

С целью выявления ЭД в клинической практике используются инструментальные методы диагностики (прямая плетизмография, ультразвуковая диагностика), исследование эндотелий-зависимой вазодилатации с помощью фармакологических проб, пробы с реактивной гиперемией, холодовым и ментальным стрессом. Также весьма важным методом оценки ЭД является лабораторная диагностика синтетической активности эндотелия, однако метаболиты обладают неодинаковой диагностической ценностью [7, 10, 11, 15, 36, 37, 39]. По данным Н.Н. Петрищева, важным и специфичным методом диагностики ЭД является определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) [36, 37, 112]. При этом первостепенная роль в диагностике ЭД отводится биохимическим методам, способным выявить нарушение ФСЭ на начальных

стадиях, до потери жизнеспособности и десквамации ЭК [10].

По скорости образования в эндотелии, а также по преимущественному направлению секреции (внутриклеточная или внеклеточная) вещества эндотелиального происхождения можно разделить на [6, 10, 23, 37, 52]:

- факторы, постоянно образующиеся в эндотелии и выделяющиеся из клеток в базолатеральном направлении или в кровь (NO, простаглицлин);
- факторы, накапливающиеся в эндотелии и выделяющиеся из него при его активации, повреждении и стимуляции (фактор Виллебранда, Р-селектин, тканевой активатор плазминогена);
- факторы, синтез которых в нормальных условиях практически не происходит, однако он резко увеличивается при активации эндотелия (эндотелин-1, межклеточная молекула адгезии-1, молекула адгезии сосудистой стенки-1, Е-селектин);
- факторы, синтезируемые и накапливающиеся в эндотелии (тканевой активатор плазминогена) либо являющиеся мембранными белками (рецепторами) эндотелия (тромбомодулин, рецептор протеина С).

Несмотря на широкий спектр возможных биохимических маркеров ЭД, большинство авторов возлагают на NO роль интегрального показателя ФСЭ [6, 20, 21, 34, 41, 82, 85, 101, 135, 140, 141, 143, 150, 151, 155, 163, 172, 175, 214, 217]. Оксид азота (II) является одним из универсальных и необходимых регуляторов функций клеточного метаболизма, а его дефицит занимает ведущее место в патогенезе ЭД и является основным пусковым фактором всего каскада проявлений и последствий заболевания [6, 10, 20–24, 148, 151, 155]. NO — восстановленная форма монооксида азота с чрезвычайно коротким сроком жизни (от 2 до 30 с), представляющая собой растворимый

в воде и жирах газ с уникальными физиологическими свойствами. Оксид азота (II) — короткоживущая молекула с огромным арсеналом физиологических и патофизиологических эффектов. Имея неспаренный электрон, молекула NO является высокоактивным радикалом, свободно проникающим через мембраны и активно участвующим в биохимических реакциях, по сути, являясь локальным тканевым гормоном [6, 10]. При взаимодействии с биологическими субстратами оксид азота (II) окисляется до нитратов и нитритов, суммарное содержание которых, определенное в лабораторных условиях в сыворотке крови, косвенно позволяет судить о его количестве [6, 9, 25].

В норме NO образуется в клетках эндотелия из L-аргинина под действием кальций-/кальмодулин-зависимой изоформы фермента NO-синтазы (NOS) при участии ко-факторов никотинамидадениндинуклеотида восстановленного, 5, 6, 7, 8-тетрагидробиоптерина, флавиномононуклеотида/флавинадениндинуклеотида и глутатиона восстановленного (GSH). Субстратами реакции служат L-аргинин и молекулярный кислород (O_2), а ее продуктами — NO и L-цитруллин (рис. 1.1) [6, 10, 24, 52].

Выделяют три изоформы NOS: NOS-1 — нейрональная (nNOS); NOS-2 — индуцибельная (iNOS); NOS-3 — эндотелиальная (eNOS) [6, 10, 52, 58, 71, 93, 98, 144, 221, 229]. В физиологических условиях основной вклад в синтез NO вносит эндотелиальная синтаза оксида азота (II). Она локализована в caveолах (лакунообразных участках ЭК плазматической мембраны), где соединена с caveолином. В подобном комплексе ее активность резко снижена. Под влиянием ряда рецепторзависимых стимулов (ацетилхолин, брадикинин, серотонин, тромбин, глутамат, аденозиндифосфат (АДФ), субстанция P), вызывающих смещение (вытеснение) eNOS из комплекса caveолин-eNOS и повышающих концентрацию каль-

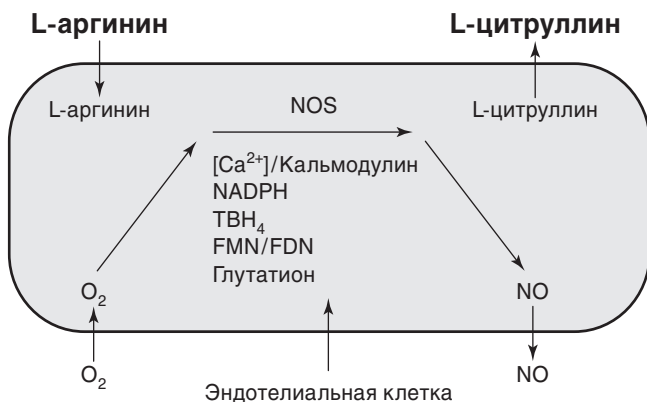


Рис. 1.1. Схема реакции синтеза оксида азота (II) под действием eNOS [141]

ция в ЭК, происходит высвобождение eNOS из плазматической мембраны, ее активация кальцием-кальмодулином, ее активация кальцием-кальмодулином, окисление L-аргинина и синтез NO [24, 144, 151].

Активность pNOS и eNOS напрямую зависит от концентрации кальция (Ca^{2+}) и кальмодулина в клетке и мало подвергается внешней коррекции [6, 10, 52]. Индуцибельная синтаза NO может образовываться в больших количествах под действием различных факторов и в основном выявляется в эндотелиальных клетках и скелетных мышцах. Именно iNOS обуславливает гиперпродукцию NO при различных патологических состояниях [6, 10, 61, 143]. В физиологических условиях наиболее значимым стимулом для выработки NO эндотелием является напряжение сдвига (shear stress) — интенсивность воздействия потока крови на сосудистую стенку [6, 10, 25].

A.J. De Belder с соавт. отмечают участие iNOS в патологических процессах при дилатационной кардиомиопатии, миокардите, при этом активность фермента примерно в 10 раз превышала анало-

гичный показатель его конститутивных форм [83]. Диаметрально противоположное мнение имеет группа ученых во главе с J. Wu, которые сделали заключение о влиянии высокой активности iNOS на продолжительность функционирования аутовенозного трансплантата вследствие высокого уровня NO и, соответственно, снижении интенсивности процесса интимальной гиперплазии [233].

Стимулируя гуанилатциклазу, NO увеличивает образование циклического ГМФ, что обуславливает расслабление сосудов, благодаря чему он получил второе свое название — эндотелиальный фактор релаксации [6, 10]. Характерными физиологическими эффектами NO признаны регуляторное влияние на проницаемость сосудов, нейротрансмиссию, бронходилатацию, систему противоопухолевого иммунитета, функцию почек, ингибирование пролиферации гладкомышечных клеток, снижение активности тромбоцитов и макрофагов. NO имеет антиоксидантную активность, ингибирует адгезию лейкоцитов и защищает от токсического действия фактора некроза опухолей α [6, 10, 214].

Центральное место в патофизиологических эффектах NO занимает его участие в процессах свободно-радикального окисления, а именно, его взаимодействие с активными формами кислорода, приводящее к образованию пероксинитрита и далее к образованию цитотоксического продукта их распада — гидроксильного радикала (OH^-). Подобный эффект приводит к повреждению различного рода макромолекул — белков, липидов, нуклеиновых кислот. Как супероксид-анион, так и NO являются свободными радикалами кислорода. Их взаимодействие протекает с крайне высокой скоростью ($6,7 \times 10^9$ моль/л $^9\text{с}^{-1}$), которая в 3 раза выше скорости реакции супероксид-аниона (O_2^-) с супероксиддисмутазой. В физиологических условиях антиоксидантная система минимизирует это взаимодействие

и поддерживает некий баланс NO и супероксид-аниона [82, 151, 172].

Свободнорадикальное окисление, или ПОЛ, имеет важное биологическое значение — регуляция клеточной активности. Физиологическое влияние ПОЛ характеризуется обновлением липидного состава и обеспечением функциональных свойств биомембран, участием в энергетических процессах, клеточном делении, синтезе биологически активных веществ. Однако при избыточном накоплении свободнорадикальных форм кислорода самоускоряющийся процесс ПОЛ приводит к окислению ненасыщенных липидов, нарушению структуры и функции белков, нуклеиновых кислот и других молекул [18].

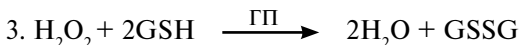
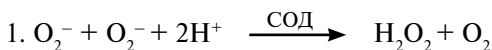
Конечный продукт ПОЛ — малоновый диальдегид (МДА), по количественному содержанию которого можно судить об активности процессов свободнорадикального окисления [17]. МДА сам по себе является агрессивным метаболитом в отношении биологических мембран, вызывая «сшивание» липидов в их составе и тем самым снижая их эластичность [15, 17].

В процессе эволюции в клетках аэробов образовались и генетически закрепились антирадикальные защитные механизмы, главную роль среди которых играют ферменты, способные к каталитической нейтрализации радикалов.

Ведущую роль среди данных ферментов занимают:

- супероксиддисмутаза, катализирующая превращения супероксид-аниона в перекись водорода и молекулярный кислород;
- каталаза, катализирующая распад H_2O_2 до H_2O и O_2 ;
- пероксидаза, восстанавливающая H_2O_2 до H_2O с использованием различных восстановителей, например, глутатионпероксидазы (ГП) [15].

Перечисленные реакции могут быть представлены следующим образом [15]:



Среди имеющегося спектра регуляторных ферментов аэробов отсутствуют ферменты, способные обезвреживать гидроксильные радикалы. Однако эффективное удаление супероксид-аниона и H_2O_2 делает невозможным образование OH^- . Таким образом, реализация положительных эффектов NO во многом зависит от состояния антиоксидантной системы организма, так как даже при гиперпродукции NO нормальное функционирование АОС исключает возможность образования агрессивных в отношении биологических систем факторов.

Таким образом, недостаточность антиоксидантной системы приводит к накоплению продуктов ПОЛ, которые обладают повреждающим действием на биологические мембраны, в том числе и на эндотелиоциты, что, по сути, приводит к их дисфункции. Именно повреждающее действие различных факторов на эндотелиоциты лежит в основе развития ЭД, и в первую очередь нарушается ультраструктура эндотелиоцитов, а уже затем — их функциональная активность и последующие гистологические изменения. Учитывая высокую активность свободных радикалов в отношении эндотелиоцитов, ряд авторов рассматривают нарушения функции ферментов АОС как наиболее вероятный механизм, способствующий развитию ЭД и являющийся фактором риска развития заболеваний сосудистого русла [73, 96, 102, 111, 154, 168, 169, 171, 218, 222]. Следовательно, только биохимические методы исследования функций

эндотелия позволяют выявить их нарушение уже на стадии инициирования. Метод определения ЦЭК весьма информативен, однако увеличение уровня ЦЭК можно определить, когда каскад биохимических изменений функций эндотелия достигает своего пика [36, 112].

В процессе своего развития и прогрессирования ЭД приводит к формированию протромботических условий:

- активация тромбоцитарного звена гемостаза, точнее, снижение ингибирующего воздействия NO на тромбоциты;
- нарушение целостности эндотелиального монослоя;
- возникновение аномалий кровотока в связи с локальными сменами его ламинарного характера на турбулентный на фоне преобладания процессов вазоконстрикции.

Совокупность подобных патофизиологических процессов лежит в основе формирования основного предиктора тромбообразования — «триады Virхова» [53, 134].

На сегодняшний день роль ЭД в развитии атеросклероза не вызывает сомнений [67, 69, 126, 138, 188, 189, 190, 201], при этом Prandoni и соавт. выявили четкую положительную корреляционную связь между атеросклеротическим поражением артериальной стенки и частотой возникновения венозных тромбозов, что не может не свидетельствовать об общих механизмах возникновения и развития этих совершенно разных заболеваний [3, 58, 66, 87, 98, 117, 130, 142, 180]. ЭД признана одним из основных подобных механизмов [66, 80, 117, 147, 167, 195].

Безусловно, значение «триады Virхова» в развитии венозных тромбозов неоспоримо (рис. 1.2) [228]. Однако учение об ЭД позволяет рассмотреть гиперкоагуляцию, патологическое изменение характера



Рис. 1.2. Компоненты триады Вирхова

кровотока и повреждение сосудистой стенки как последующие стадии нарушения функции эндотелиоцитов, ибо все эти явления имеют ту или иную зависимость от факторов, синтезируемых эндотелием [56, 86, 98, 134, 213].

Одним из наиболее частых мест локализации венозных тромбозов является подклапанное пространство. Характер кровотока в местах прилегания венозных клапанов чаще всего можно назвать турбулентным. Таким образом, не только замедление кровотока, но и изменение его характера играет роль в формировании тромбоза и/или венозного рефлюкса [137, 228]. Дефицит NO в венозном русле также имеет свое влияние на характер кровотока — локальные спазмы отдельных гладкомышечных клеток могут служить одной из предпосылок для формирования турбулентного кровотока на определенном участке венозного русла. Учитывая антиагрегантные свойства NO и его ингибирующее воздействие на активированные лейкоциты, можно сделать вывод

о важной роли данного метаболита в поддержании равновесия между про- и антикоагулянтными процессами венозного русла.

В настоящее время все больше затрагивается вопрос о роли ЭД при варикозном расширении подкожных вен нижних конечностей. Однако доминирующая роль в развитии структурных изменений венозной стенки все же отводится феномену «лейкоцитарной агрессии» [160, 177, 199, 209]. Ряд авторов отмечают вторичный характер интенсификации лейкоцитарной адгезии к эндотелию на фоне оксидативного стресса, что говорит о роли последнего как пускового механизма в цепи патологических процессов [89, 232]. При этом остается открытым вопрос о первичности поражения эндотелиоцитов при венозной патологии активированными лейкоцитами либо свободными радикалами.

Шевченко Ю.Л. и соавт. выявили прямую корреляционную связь между количеством ЦЭК и стадиями варикозной болезни, а также обратили внимание на снижение уровня ЦЭК после венэктомии, что говорит о варикозно трансформированной вене как об источнике ЦЭК, т.е. сосуде с органическим поражением, вследствие ЭД [51, 56]. Небылицин Ю.С. и соавт. также описывают повышение уровня ЦЭК и продуктов ПОЛ при тромбофлебитах глубоких вен с одновременным повышением метаболитов NO, что тоже характеризует данную патологию с позиции ЭД [30–33].

Большое внимание в литературе уделяют роли гипоксии в развитии ЭД как процессу, который характеризуется изменением перфузионно-реперфузионных отношений между кровотоком и сосудистой стенкой и тем самым провоцирует нарушение равновесия между ПОЛ и АОС в сторону интенсификации образования свободных радикалов [127, 145, 232]. Таким образом, при венозной патологии, в частности при ТГВ, создаются необходимые условия для про-

грессирования ЭД, что требует поиска новых подходов к данной проблеме с позиции коррекции ЭД.

Suzuki H. с соавт. предложили оценивать риск развития венозного тромбоза путем исследования реактивной гиперемии — типичного скрининг-теста нарушений ФСЭ, тем самым уделяя большое внимание роли ЭД в развитии ВТЭО [207].

ЭД венозной системы на начальных стадиях развития свойственны не только функциональные и биохимические сдвиги, но и минимальные ультраструктурные нарушения, которые приводят к нарушению синтетической активности ЭК. Прасол В.А. и соавт. рассматривают митохондриальную недостаточность эндотелиоцитов в качестве иницирующего фактора развития дефицита биоэнергетического обеспечения внутриклеточных синтетических реакций и репаративных процессов. Также отмечается важность субмикроскопической организации базальных мембран, которая выступает существенным фактором возможности восстановления поврежденного слоя эндотелия, так как пролиферация ЭК в отсутствие базальной мембраны невозможна [40].

1.2. Воспроизведение венозной эндотелиальной дисфункции в эксперименте

Согласно литературным данным, существует два возможных экспериментальных варианта воспроизведения дисфункции эндотелия венозной стенки: моделирование венозной патологии как таковой либо воспроизведение системной ЭД, которая в равной степени возникает как в артериальном, так и в венозном руслах [2, 16, 22, 26, 29, 32, 50, 178].

Описаны различные способы получения экспериментальных тромбозов у животных. Большинство из них основывается на использовании ведущих

факторов, способствующих тромбообразованию (нарушения структуры сосудистой стенки, скорости кровотока, активации компонентов свертывающей системы крови и депрессий противосвертывающих механизмов и другие). Важность сочетания этих факторов тромбообразования была доказана многими авторами [26, 50]. Простое лигирование сосуда не вызывает развития тромбоза. Однако наличие гематомы в окружности выключенного участка сосуда обуславливает образование тромба [26].

В настоящее время все способы получения экспериментального тромбоза можно подразделить на [26]:

- механические (перевязка, уколы, поколачивание стенки сосуда и введение инородного тела);
- химические и биохимические (введение в сосудистое русло 1,5% хлористого железа, раствора Люголя, концентрированных солевых растворов, эфира, хлорэтила, хлороформа, скипидара, 30% раствора салициловокислого натрия, токсинов);
- биофизические (применение постоянного электрического тока различного напряжения);
- иммунологические (введение в полость кровеносного сосуда сенсibilизированного организма разрешающей дозы сывороток различных видов).

Существенным недостатком такого типа моделирования венозной дисфункции эндотелия можно назвать нарушение истинной хронологии развития сосудистой патологии, так как вначале возникает органическое нарушение, а уже затем изменяется содержание продуктов синтеза эндотелия, что противоречит теории ЭД. Однако это позволяет изучить содержание все тех же метаболитов уже при развернутой клинической картине венозного тромбоза и, соответственно, ПТС.

В литературе дается описание множества методик воспроизведения венозного тромбоза и ПТС в эксперименте.

J. Zhou и соавт. осуществляли перевязку нижней поллой вены на время от 15 до 60 мин с последующим изучением массы полученных тромбов. Иммуногистохимический анализ показал экспрессию тканевого фактора эндотелиальными клетками и лейкоцитами [238].

P. Pottier и соавт. создали модель, в которой венозный стаз может быть откалиброван путем изменения степени стеноза нижней поллой вены в условиях предварительного тромботического состояния за счет частичной перевязки нижней поллой вены [179].

Y. Saito и соавт. использовали модель фотодинамического венозного тромбоза под действием зеленого аргонового лазера [193].

Doutremeuich F. и соавт. для формирования венозного тромбоза, после предварительного повреждения эндотелия лазером, вводили фибриноген в различных дозах, при этом отмечена прямая корреляционная связь между повышением концентрации фибриногена в плазме крови и риском тромбозомболических осложнений [84].

Ungersböck K. и соавт. применяли медленную инфузию суспензии каолин-кефалин в сагиттальный синус крыс после предварительной передней и задней его перевязки [215].

Reyers I. и соавт. перевязывали нижнюю полую вену хлопковой нитью дистальнее левой почечной вены. Через два часа дистальный участок нижней поллой вены иссекали с последующим измерением массы полученного тромба [187].

Millet J. и соавт. сочетали солевые промывки вен с последующей их перевязкой. Было доказано, что воздействие гипертонического солевого раствора индуцирует дискретные эндотелиальные повреждения [231].

Nagai M. и соавт. использовали в своих экспериментах методики с применением хлорида железа (III) (FeCl_3) и фотоактивацией флюоресцеина [158].

Gorman P. и соавт. воспроизводили тромбозы кожных сосудов у крыс путем создания ожога с поражением на всю толщину на спине с помощью латунного бруска [96].

Herbert J. и соавт. вызывали венозный тромбоз перевязкой нижней полой вены у крыс с предварительным внутривенным введением тканевого тромбoplastина [110].

Андреев С.В. и соавт. в 1968 г. описали электролитический метод получения стандартных венозных тромбов с целью изучения различных тромболитических веществ [26].

Самым простым, воспроизводимым и наименее травматичным способом воспроизведения экспериментального венозного тромбоза является метод Wessler S. и соавт.: сочетание венозного застоя (лигирования вены) и гиперкоагуляции, за счет введения в сосуд активированного фактора свертывания (например, тромбина) [16, 120, 179, 225].

Модели системной ЭД, безусловно, в подавляющем большинстве случаев используют с целью воспроизведения артериальной патологии, однако с успехом могут применяться и для дисфункции эндотелия вен, ввиду системности своего воздействия на сосудистое русло.

Walker H.A. и соавт. в 2001 г. описали ЭД на фоне дефицита эстрогенов, вследствие двусторонней овариэктомии у крыс [223].

Paganelli M.O. и соавт. описали никотин-индуцированную ЭД у крыс на фоне введения никотина в течение 4-х недель в дозе 2 мг/кг/сут [56].

Young J.S. и соавт. в 1991 г. и Myers P.R. и соавт. в 1995 г. описали модель ЭД на фоне эндотоксинемии: лабораторным крысам однократно внутривенно вводился эндотоксин *E. coli* в дозе 15 мг/кг [128, 235].

Kumagi Y. описана модель ЭД на фоне применения для водопоя животных водных растворов солей мышьяка с концентрацией 5 мг/л в течение 18 нед [122].

Witting P.K. и соавт. в 2005 г. описали модель дисфункции эндотелия у кроликов путем однократного энтерального введения водного раствора, содержащего 400 мкМоль хлорноватистой кислоты, в течение 2 ч [227].

Forgione M.A. и соавт. в 2002 г. применили на лабораторных мышах модель ЭД, вследствие дефицита ГП [92].

Широкое распространение в настоящее время получает модель дисфункции эндотелия на фоне гиперурикемии. Chen G.L. и соавт. в 2006 г. получили ЭД на фоне гиперурикемии энтеральным введением крысам экстракта дрожжей в дозе 20–30 мг/кг/сут в течение 7 сут [76].

Henderson K.K. и соавт. в 2004 г. в качестве модели ЭД применили у свиней гиперхолестериную диету, включавшую 2% холестерина, 17,1% кокосового масла, 20,3% кукурузного масла и 0,7% холата натрия [109].

Zulli A. и соавт. в 2003 г. воспроизводили ту же модель у кроликов с применением 1% метионина и 0,5% холестерина [239].

Модель гипергомоцистеинемии как ЭД воспроизводили Shah D.I. в 2007 г. у крыс на фоне энтерального введения L-метионина* в течение 4 нед [198]. Тот же автор воспроизвел в 2006 г. модель дисфункции эндотелия при сахарном диабете, путем применения у крыс стрептозоцина в дозе 55 мг/кг однократно [197].

Также хорошо зарекомендовала себя модель дисфункции эндотелия на фоне гипертензии, воспроизводимой различными способами.

Share L. и соавт. в 1982 г. воспроизвели вазоренальную гипертензию путем одно- и двустороннего клипирования почечных артерий у крыс [200].

Gout B. и соавт. в 1999 г. воспроизводили гипертензию путем однократного введения крысам монокротанина в дозе 40 мг/кг [97].

Особое место среди моделей ЭД занимает L-NAME — индуцированный дефицит оксида азота (II), обуславливающий ингибирование eNOS — ключевого фермента в синтезе NO. Именно данная модель позволяет воспроизвести ЭД *in vivo* в чистом виде, т.е. без затрагивания других систем организма лабораторного животного [123].

В отличие от экспериментальных моделей первой группы к недостаткам данной группы моделей относится отсутствие воспроизведения изучаемого заболевания как такового. Таким образом, проецируя данные модели на венозную патологию, функциональные нарушения в воспроизведенных моделях системной ЭД с малой долей вероятности достигнут органических изменений с последующим тромбозом, хотя именно это интересует нас как клиницистов.

Обобщая обзор перечисленных экспериментальных моделей ЭД, напрашивается вывод, что для детального и подробного изучения, системного понимания роли дисфункции эндотелия в развитии заболеваний венозной системы, в эксперименте необходимо использовать как модели данных заболеваний, так и системной ЭД, особенно, когда речь идет о медикаментозной ее коррекции.

1.3. Применение биофлавоноидов при различных заболеваниях сердечно-сосудистой системы

Впервые термин «флавоноиды» появился в середине XX в. В 1937 г. А. Сент-Дьерди выделил из лимона и красного перца вещество, способствовавшее укреплению капилляров и повышавшее противцинготную активность аскорбиновой кислоты. Данная субстанция была названа витамином P (англ. permeability — проницаемость). Ее положительное

влияние на сосудистую стенку получило название Р-витаминной активности. Позже было выяснено, что данные органические соединения представляют собой широкую группу и встречаются во многих растениях. Все эти соединения имеют различное строение, однако наличие в их структуре ароматического цикла является их общим признаком. Эти вещества были названы флавоноидами (лат. flavus — желтый).

Флавоноиды — группа водорастворимых и липофильных природных фенольных соединений преимущественно оранжевого, красного и желтого цветов. В настоящее время известно около 6000 флавоноидов. Все они делятся на несколько подгрупп: халконы, дигидрохалконы, антоцианы, катехины, лейкоантоцианы, производные флавонола, флавонона, флавонола и изофлавонола.

Организм млекопитающих и, в частности, человека не способен синтезировать флавоноиды, в связи с чем последние — незаменимые компоненты пищи человека и животных. Приблизительная суточная потребность человека в флавоноидах примерно 50–100 мг.

Основными источниками для фармакологического производства флавоноидов служат гречиха, цедра цитрусовых и софора японская.

Биологическая активность флавоноидов обусловлена способностью тормозить окисление аскорбиновой кислоты и ПОЛ, а также связывать ионы тяжелых металлов путем образования с ними хелатных комплексов [2].

Основными клиническими эффектами биофлавоноидов, обуславливающими их применение в медицинской практике, можно назвать капилляропротекцию и снижение проницаемости сосудистой стенки. Также они выступают в качестве мощных антиоксидантов за счет повышения абсорбции витамина С и стимуляции окислительных процессов в тканях благодаря ускорению восстановления деги-

дроаскорбиновой кислоты в высокоактивную аскорбиновую кислоту [81, 100, 166]. Ряд авторов отмечают эндотелиотропные свойства биофлавоноидов, которые обуславливают широчайший спектр клинического применения данных веществ. Подобные эффекты препаратов данной группы, по мнению большинства авторов, связаны с их антиоксидантными свойствами либо с прямым активирующим действием на eNOS [64, 84, 104, 105, 114, 119, 120, 129, 139, 153, 159, 185, 187, 206, 218, 219].

Несмотря на широкий спектр терапевтических эффектов флавоноидов, в подавляющем большинстве случаев они применяются у пациентов флебологического профиля. На сегодняшний день в качестве флебопротекторов, за небольшим исключением, используются только биофлавоноиды и их комбинации [49]. Клиническим эффектом, общим для всех флеботропных препаратов, служит способность уменьшать выраженность симптомов, обусловленных хроническими заболеваниями вен [156].

Основные механизмы реализации терапевтических эффектов флеботропных препаратов:

- увеличение венозного тонуса в результате нормализации тока крови, снижения агрегации эритроцитов и лучшей оксигенации эндотелиоцитов;
- противоотечный эффект за счет нормализации проницаемости капиллярной стенки и улучшения лимфатического оттока;
- ингибирование адгезии лейкоцитов к эндотелию и их миграции через венозную стенку в паравазальные ткани;
- усиление фибринолиза и улучшение реологических свойств крови.

МОФФ — на сегодняшний день наиболее изученный из известных флавоноидов с выраженной флеботропной активностью. Представляет собой диос-

мин, подверженный микронизации, обладающий наряду с капилляропротективным действием, антиоксидантным и антимуtagenным свойствами [3, 77, 78, 80, 89, 90, 93, 94, 95, 142, 169, 176, 178, 189, 191, 192, 210, 211, 214, 215, 220, 221, 224, 231].

Диосмин экстрагируют из различных растений (цедры цитрусовых, цветов мелкозернистой софоры и бобовых) или получают путем расщепления другого биофлавоноида — гесперидина.

В желудочно-кишечном тракте диосмин всасывается после конвертации микрофлорой в агликондиосметин, растворимый в липидах. Диосметин быстро перераспределяется, и его период полувыведения может колебаться от 26 до 43 ч.

Концентрация диосметина в плазме демонстрирует линейную зависимость от количества принятого диосмина. Биодоступность последнего повышает ультразвуковая микронизация — технология, в результате которой частицы с 36,5 мкМ (нативный диосмин) размельчают до 1,75 мкМ. Благодаря микронизации, абсорбция диосмина в желудочно-кишечном тракте увеличивается с 32 до 58%. К.А. Lyseng-Williamson с соавт. в 2003 г. привели подробную классификацию различных эффектов МОФФ [136].

- Венотонизирующий. Основан на пролонгировании вазоконстрикторного эффекта норадреналина и снижении венозного стаза, увеличении механического расширения вены, повышении чувствительности гладкомышечных элементов венозной стенки к Ca^{2+} , снижению адгезии эритроцитов, гематокрита и концентрации протеинов плазмы в венах нижних конечностей в ортостазе.
- Улучшение микроциркуляции. Основан на ингибировании экспрессии молекулы межклеточной адгезии 1, подавлении адгезии и миграции лейкоцитов, а также синтеза свободных радикалов, простагландинов E_1 , F_2 и тромбоксана A_2 , сниже-

нии проницаемости капилляров, индуцированной брадикинином и гистамином, увеличении плотности и реактивности сосудов микроциркуляторного русла, уменьшении апоптоза паренхиматозных клеток, ингибировании агрегации тромбоцитов.

- **Лимфотропный.** Основан на повышении сократимости и увеличении частоты спонтанных сокращений лимфатических сосудов, улучшении лимфатического дренажа, снижении концентрации протеинов и фибробластов в паравазальных тканях.

МОФФ, благодаря плейотропности, служит универсальным фармакологическим средством, демонстрируя высокую клиническую эффективность у больных со всеми формами и стадиями хронических заболеваний вен [211].

Эффективность **МОФФ** регистрируется не только при хронических заболеваниях вен. Так, Крылов А.Ю. с соавт. описывают эффективность применения ударных доз препарата при лечении острого варикотромбофлебита. Доза препарата составляла 3 г/сут [14].

Наставшева О.Д. с соавт. описывают эффективность применения **МОФФ** в стандартных дозировках у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей [27].

Потенциальная эффективность препарата **МОФФ** при нарушениях **ФСЭ** может быть связана с его антиоксидантными свойствами, путем снижения количества свободных радикалов, имеющих высокое сродство к **NO** с образованием пероксинитрита или же прямое их повреждающее действие на биологические мембраны [54, 57, 70, 95, 136, 212, 203]. Также весьма важным свойством **МОФФ** служит ингибирование **iNOS** при различных патологических состояниях [54, 143]. Данный механизм описывается как снижение воздействия активных форм

кислорода и продуктов ПОЛ на эндотелиоциты, за счет чего и обеспечивается физиологическое течение эндотелий-зависимых процессов. Также уделяется внимание и снижению вероятности взаимодействия NO со свободными радикалами на фоне нормализации процессов ПОЛ, за счет чего нивелируется риск образования пероксинитрита. Другая группа исследователей придерживается мнения о том, что биофлавоноиды, стимулируя эндогенные механизмы синтеза NO за счет eNOS, приводят к усилению реализации его физиологических эффектов, при этом уделяется внимание и тому факту, что подобные положительные изменения наблюдаются на фоне нормализации активности процессов ПОЛ и АОС [132, 148, 186, 236]. Именно антиоксидантным свойствам флавоноидов отводится ведущая роль в ингибировании фиброзно-склеротических изменений и лейкоцитарной агрессии при хронических заболеваниях вен [64, 66, 70, 72, 74].

Таким образом, применение препарата МОФФ с целью коррекции ФСЭ при патологии венозного русла весьма оправдано и имеет перспективы дальнейшего изучения.