



УДК: 615.322: 616.14-002: 615.225  
DOI: 10.14739/2409-2932.2017.1.93443

Л. М. Малоштан, Г. С. Каленіченко

## Дослідження фармакологічної активності густого екстракту з листя ліщини на моделі експериментального тромбофлебіту периферичних судин у кролів

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Створення доступного вітчизняного препарату для лікування та профілактики тромботичних уражень вен, що здатний коригувати якомога більший спектр порушень із мінімальною побічною дією, – актуальний напрям фармакології.

**Мета роботи** – вивчення фармакологічної активності екстракту з листя ліщини на експериментальній моделі тромбофлебіту периферичних судин у кролів.

**Матеріали та методи.** Експериментальний тромбофлебіт відтворювали шляхом накладання лігатури на крайову вену вуха кроля та введення розчину Люголя в порожнину вени. Ця модель дає змогу отримати порушення кровотоку внаслідок стаза та запалення венозної стінки, що характерно для більшості тромботичних станів у людини. Для детальнішого оцінювання інтенсивності патологічного процесу в судинній стінці вени та його корекції препаратами, що досліджували, порівняно з групою контрольної патології здійснили гістологічні дослідження згідно з уніфікованим методом світлової мікроскопії.

**Результати.** Вивчено, що у тварин, які отримували екстракт із листя ліщини звичайної, вже у першу добу спостереження площа пошкодженої ділянки вуха була на 23 % меншою порівняно з групою контрольної патології. На п'яту добу експерименту екстракт вірогідно зменшував площу запалення на 24 %, а на десяту – на 73 %. За виразністю протекторної дії густий екстракт з листя ліщини звичайної статистично вірогідно переважав препарат порівняння ескувіт протягом експерименту. Дослідження гістологічних зрізів показали, що густий екстракт із листя ліщини сприяв тромболізу, перешкодив руйнуванню судинної стінки, зменшував дегенеративні зміни та запальну реакцію в оточуючих тканинах і проявив більш показовий вплив, ніж препарат порівняння ескувіт.

**Висновки.** Дані, що одержали, свідчать про протизапальну, тромболітичну та венопротекторну дію екстракту з листя ліщини звичайної, що за виразністю ефекту має переваги перед препаратом порівняння таблетками ескувіт. Отже, результати дослідження дають можливість рекомендувати екстракт із листя ліщини як виражений венопротекторний засіб.

**Ключові слова:** екстракти рослин, ліщина, тромбофлебіт, фібринолітичні засоби.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.** – 2017. – Т. 10, № 1 (23). – С. 66–70

### Исследование фармакологической активности густого экстракта из листьев лещины на модели экспериментального тромбофлебита периферических сосудов у кролей

Л. Н. Малоштан, А. С. Калениченко

Создание доступного отечественного препарата для лечения и профилактики тромботических поражений вен, способного корректировать как можно больший спектр нарушений с минимальным побочным действием, является актуальным направлением фармакологии.

**Цель работы** – изучение фармакологической активности экстракта из листьев лещины на экспериментальной модели тромбофлебита периферических сосудов у кролей.

**Материалы и методы.** Экспериментальный тромбофлебит воспроизводили путём накладывания лигатуры на краевую вену уха кроля и введения раствора Люголя в полость вены. Данная модель позволяет получить нарушения кровотока вследствие стаза и воспаления венозной стенки, что характерно для большинства тромботических состояний у человека. Для более детальной оценки интенсивности патологического процесса в стенке вены и его коррекции исследуемыми препаратами по сравнению с группой контрольной патологии проводили гистологические исследования согласно унифицированному методу световой микроскопии.

**Результаты.** Выяснено, что у животных, получавших экстракт из листьев лещины обыкновенной, уже в первые сутки эксперимента площадь повреждённого участка уха была на 23 % меньше по сравнению с группой контрольной патологии. На пятые сутки эксперимента экстракт достоверно уменьшал площадь воспаления на 24 %, а на десятый день – на 73 %. По выраженности протекторного действия густой экстракт из листьев лещины обыкновенной статистически достоверно преобладал над препаратом сравнения эскувит на протяжении всего эксперимента. Исследование гистологических срезов показало, что густой экстракт из листьев лещины способствовал тромболізу, препятствовал разрушению сосудистой стенки, уменьшал дегенеративные изменения и воспалительную реакцию в окружающих тканях и проявил более выраженное влияние по сравнению с препаратом сравнения эскувит.

**Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о противовоспалительном, тромболитическом и венопротекторном действии экстракта из листьев лещины обыкновенной, что по выраженности эффекта имеет преимущества перед препаратом сравнения таблетками эскувит. Таким образом, результаты исследования позволяют рекомендовать экстракт из листьев лещины в качестве выраженного венопротекторного средства.

**Ключевые слова:** экстракты растений, лещина, тромбофлебит, фибринолитические средства.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики.** – 2017. – Т. 10, № 1(23). – С. 66–70

## The study of the pharmacological activity of thick extract from the leaves of *Corylus avellana* on the model of peripheral vascular thrombophlebitis in rabbit ear

L. M. Maloshtan, A. S. Kalenichenko

Creation of accessible domestic drug for the treatment and prevention of thrombotic venous damage, which would be able to adjust maximum range of disorders with minimal side effects, is actual direction of the pharmacology.

**The aim** of this work is to study the pharmacological activity of the extract from the leaves of *Corylus avellana* on the experimental model of thrombophlebitis in rabbit's ears.

**Materials and methods.** Experimental thrombophlebitis was reproduced by overlaying the ligature on the rabbit ear border vein and introduction of Lugol solution in the vein cavity. This model allows to impaired blood flow as a result of stasis and inflammation of the vein wall, which is typical for the majority of thrombotic conditions in humans. Histological studies were carried out in accordance with standardized methods of light microscopy for the more detailed assessment of the pathological process intensity in the wall of the vein and its correction study by medication compared with the control group.

**Results.** It has been established that animals treated with the *Corylus avellana* leaves extract have damaged area of the ear by 23 % less in comparison with the control group on the first day of the experiment. On the 5th day of the experiment, the extract significantly reduced the inflammation area by 24 %, and on the 10th day – by 73 %. According to expression of the protective effect, the extract statistically significantly prevailed over comparison drug eskuvit throughout all experiment. The study of histological samples showed that the extract contributed to thrombolysis, prevented the destruction of the vascular wall, degenerative changes and reduced inflammation in the surrounding tissues and showed more demonstrative impact compared to the reference drug.

**Conclusions.** The obtained results are an evidence of the anti-inflammatory, vein-protective and thrombolytic action that have the superiority over eskuvit tablets. Thus, the results of this study allow to recommend the extract of *Corylus avellana* leaves as expressed vein-protective remedy.

**Key words:** plant extractis, Corylus, thrombophlebitis, fibrinolytic agents.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2017; 10 (1), 66–70**

Висока поширеність варикозної хвороби та її ускладнень є надзвичайною проблемою XXI століття, що призводить до підвищення показників інвалідності та вартості лікування. Варикозні вени – сприятливе місце для розвитку тромботичного процесу, оскільки зміни судинної стінки та уповільнення току крові є надзвичайно важливими причинами тромбоутворення [1]. Відомо, що на тлі венозного застою та турбулентного кровотоку в підшкірних венах відбуваються зміни адгезивно-агрегаційних властивостей формених елементів крові та коагуляційної ланки гемостазу, що нерідко супроводжується запаленням м'яких тканин, які оточують вену, призводячи до виникнення тромбофлебітів [2]. Безпечним для життя є висхідний тромбофлебіт великої підшкірної вени, що може бути причиною емболії легеневої артерії, тому основною метою лікування та профілактики тромботичних захворювань є антикоагулянтна терапія.

Однак препарати, що застосовуються в рамках комплексної антитромботичної терапії, не володіють достатньою широтою фармакологічної активності. Лікарські засоби – переважно закордонного виробництва, що мають високу ціну [3]. У зв'язку з цим необхідне створення доступного вітчизняного препарату для лікування та профілактики тромботичних уражень вен, котрий здатний коригувати якомога більший спектр порушень, з мінімальною побічною дією та який був би доступний за ціною. Перспективною сировиною для розробки такого засобу обрали листя з ліщини звичайної (*Corylus avellana*), що росте на території України. У попередніх наших дослідженнях густий екстракт із листя ліщини проявив виражені судинозміцнювальні [4], протизапальні [5], антикоагулянтні та мембраностабілізуючі властивості [6].

### Мета роботи

Вивчення фармакологічної активності густого екстракту з листя ліщини звичайної на моделі експериментального тромбофлебіту периферичних судин у кролів.

### Матеріали і методи дослідження

Експериментальний тромбофлебіт відтворювали введенням у крайову вену вуха 0,2 мл розчину Люголя за методикою, що розроблена на кафедрі фізіології та анатомії людини Національного фармацевтичного університету України (НФаУ) [7]. Ця модель дає змогу отримати порушення кровотоку внаслідок стазу та запалення венозної стінки, що характерно для більшості тромботичних станів у людини.

В експерименті використовували 14 кролів-самців масою тіла 3,0–3,5 кг, яких поділили на 3 групи: 1 – контрольна патологія (4 кролі) – не ліковані тварини з відтвореною патологією; 2 – тварини, які на тлі тромбофлебіту отримували лікування густим екстрактом із листя ліщини в дозі 25 мг/кг (6 кролів); 3 група – тварини, які на тлі тромбофлебіту отримували лікування препаратом порівняння ескувітом у дозі 5 мг/кг за діючою речовиною в таблетці (4 кролі). Як препарат порівняння використовували аналог за фармакологічною дією – таблетки ескувіт (АТ «Галичфарм», Україна). Дози для кролів перераховували з урахуванням маси тіла за допомогою коефіцієнтів перерахунку за методом Риболовлева [8].

Досліджуваний екстракт і препарат порівняння вводили 1 раз на день внутрішньошлунково за 6 днів до моделювання патології та протягом усього експерименту. Виведення тварин з експерименту здійснили на 10 добу після індукції тромбофлебіту шляхом повітряної емболії.

Для детальнішого оцінювання інтенсивності патологічного процесу в судинній стінці вени та його корекції досліджуваними препаратами порівняно з групою контрольної патології здійснювали гістологічні дослідження за консультативною допомогою канд. біол. наук Ю. Б. Лар'яновської згідно з уніфікованими методами світлової мікроскопії [9].

Усі втручання та евтаназію тварин здійснювали з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та I Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001). Результати опрацювали за програмою Statistica 6.0 на підставі дисперсійного аналізу для даних із повторними вимірюваннями з використанням критеріїв Крускала–Уолліса, Манна–Уїтні та методу Данета, при рівні вірогідності  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Клінічні спостереження за розвитком експериментального тромбофлебиту у кролів показали: накладання лігатури та введення розчину Люголя призвело до розвитку тромбозу зовнішньої вени вуха та запального процесу у прилеглих тканинах у тварин групи контрольної патології. Запальний процес супроводжувався яскраво вираженою гіперемією та набряком (табл. 1). Профілактичне введення густого екстракту з листя ліщини звичайної протягом 6 дб сприяло зниженню запалення та гіперемії вже на першу добу спостереження – площа пошкодженої ділянки вуха кролів була на 23 % меншою порівняно з групою контрольної патології. Дещо менш виражену протекторну дію на першу добу виявив ескувіт: площа пошкодженої ділянки вуха була меншою на 10 % порівняно з контрольною патологією. Усі наведені зміни були статистично значущими. На п'яту добу експерименту екстракт із листя ліщини вірогідно зменшував площу запалення на 24 % (табл. 1) порівняно з контрольною патологією, водночас як ескувіт зменшував площу запалення на 8 %. На десяту добу у групи тварин, котрих лікували екстрактом, спостерігали істотне зменшення площі запалення вуха на 73 % порівняно з контрольною патологією, а у групі тварин, яких лікували ескувітом – на 63 %. Протягом експерименту у групі тварин контрольної патології площа гіперемії змінювалась не суттєво і до десятої доби зменшилась на 36 % порівняно з вихідними даними. Слід відзначити, що за виразністю протекторної дії густий екстракт із листя ліщини звичайної статистич-

но вірогідно переважав препарат порівняння ескувіт.

Дані наукової літератури свідчать: засоби на основі флавоноїдів захищають венозні судини від деформації, запобігають взаємодії лейкоцитів з ендотелієм, завдяки чому вдається запобігти реакції запалення, а отже виявляють ангіопротекторну дію [10].

Дослідження гістологічних зрізів показали, що на мікропрепаратах із контрольною патологією просвіт крайової вени вуха виразно розширений. Судина майже повністю заповнена щільним тромбом, який закупорює просвіт вени, спостерігається деструкція стінки судини, дегенеративний набряк колагенових волокон власної шкіри, запальна реакція (рис. 1).

Помічали зміни стану тромбу від розпаду еритроцитів і лейкоцитів, появи сполучнотканинних клітин до повного заміщення волокнистою тканиною та облітерації судини. Також змінювався стан судинної стінки: спостерігали різну виразність склерозу (рис. 2).

На гістологічних препаратах після профілактично-лікувального введення екстракту з листя ліщини морфологічний стан крайової вени та тканин вуха значно покращився: тромб не закупорював просвіт судини, його матеріал був розм'якшений і мав виразні ознаки лізису. Судинна стінка – практично збережена, значно менші або відсутні дегенеративні зміни колагенового матриксу власної шкіри, запальна реакція – відсутня (рис. 3).

Далі по ходу вени тромби у просвіті були відсутні, тік крові в судині вільний, траплялись помірний набряк колагенових волокон у власній шкірі та вогнищеві перивазальні запальні інфільтрати (рис. 4).

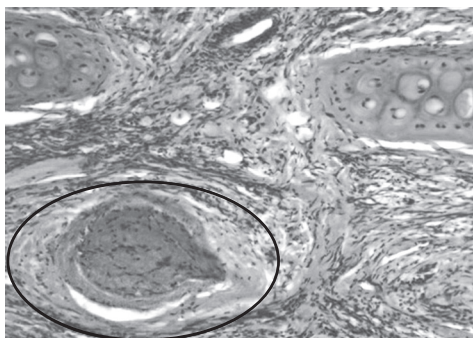
Практично не визначався склероз судинної стінки. Ближче до краю вуха стан крайової вени відповідав нормі. Після аналогічного за схемою введення препарату порівняння ескувіту на цій експериментальній моделі патології менш показово впливав на розм'якшення матеріалу тромбу та тромболізису. Під впливом ескувіту зменшувались і запальні прояви у тканинах вуха. Отже, екстракт із листя ліщини при профілактично-лікувальному режимі введення сприяв розм'якшенню матеріалу тромбу і тромболізису та, очевидно, зменшенню розмірів самого тромбу. Унаслідок цього маси розпаду тромбу не закупорювали просвіт судини, а «змивалися» током крові й на дослідженій ділянці вуха, на відміну від контрольної патології, відновлювався тік крові у крайовій вені. Екстракт із листя ліщини перешкодив руйнуванню судинної стінки, зменшував або усував дегенеративні зміни та

**Таблиця 1.** Вплив густого екстракту з листя ліщини на площу запалення вуха навколо тромбу в умовах гострого тромбофлебиту у кролів

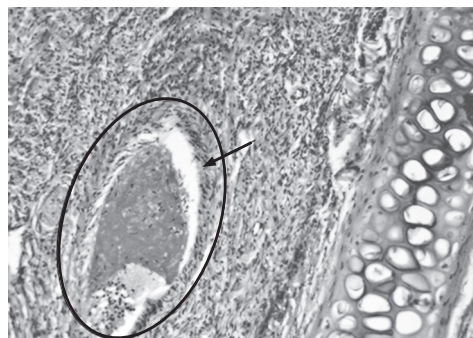
Групи тварин	День спостереження після моделювання тромбу, площа запалення, мм <sup>2</sup>		
	1 доба	5 доба	10 доба
Контрольна патологія	549,5 ± 11,83	413,6 ± 12,91	349,4 ± 9,68
Екстракт із листя ліщини	423,03 ± 12,02***	315,8 ± 6,77***	93,7 ± 3,76***
Ескувіт	494,7 ± 9,69*	380,5 ± 10,76	128,5 ± 6,87*

\*: до контрольної патології, Манна–Уїтні,  $p > 0,05$ ; \*\*: до ПП ескувіту, Манна–Уїтні,  $p > 0,05$ .

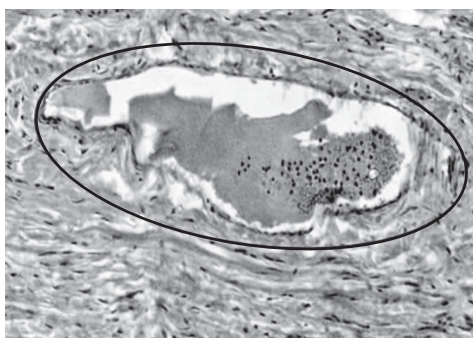




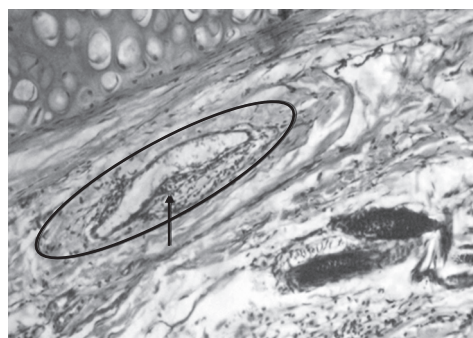
**Рис. 1.** Ділянка вуха кроля з групи контрольної патології. Червоний тромб закупорює просвіт вени (овал), деструкція стінки судини, дегенеративний набряк колагенових волокон власної шкіри, запальна реакція. Гематоксилін-еозин. x200.



**Рис. 2.** Ділянка вуха кроля з групи контрольної патології. Розпад еритроцитів і лейкоцитів (овал), поява нечисленних сполучнотканинних клітин, склероз стінки вени (стрілка). Гематоксилін-еозин. x200.



**Рис. 3.** Ділянка вуха кроля з групи лікування екстрактом із листя ліщини. Розм'якшення, лізис матеріалу тромбу у вени (овал), збереження судинної стінки, відсутність запальної реакції, змін у стані колагенового матриксу власної шкіри. Гематоксилін-еозин. x250.



**Рис. 4.** Ділянка вуха кроля з групи лікування екстрактом із листя ліщини. Відсутність тромбу у просвіті вени (овал), вогнищеві запальні перивазальні інфільтрати (стрілка). Гематоксилін-еозин. x250.

запальну реакцію в оточуючих тканинах і проявив більш показовий вплив порівняно з препаратом порівняння ескувітом.

### Висновки

1. Профілактичне введення густого екстракту з листя ліщини в дозі 25 мг/кг чинить протизапальну, тромболітичну та венопротекторну дію в умовах експеримен-

тального тромбофлебіту периферичних судин у кролів.

2. За виразністю дії на прояви експериментального тромбофлебіту екстракт із листя ліщини не поступався препарату порівняння ескувіту, а за виразністю венопротекторної дії дещо переважав останній.

3. Результати досліджень дають можливість рекомендувати екстракт із листя ліщини як виражений венопротекторний засіб.

### Список літератури

- [1] Robbins Basic Pathology / ed. by A.K. Abbas, J.C. Aster, V. Kumar. – 9th ed. – Philadelphia, United States: Health Sciences Division, 2012. – 928 p.
- [2] Богачев В.Ю. Хронические заболевания вен нижних конечностей: современный взгляд на патогенез, лечение и профилактику / В.Ю. Богачев, О.В. Голованова, А.Н. Кузнецов // Фарматека. – 2014. – №20(293). – С. 19–26.
- [3] Жадько С.В. Аналіз асортименту та структури споживання венотонізуючих лікарських засобів в Україні / С.В. Жадько, О.В. Сирожкіна // Професійний менеджмент в сучасних умовах розвитку ринку : матеріали III науково-практичної конференції (4 листопада 2014 р.). – Х., 2014. – С. 118–120.
- [4] Maloshtan L.M. The study of the action of the thick extract from the leaves of *Corylus avellana* on the vascular tissue permeability / L.M. Maloshtan, G.S. Kalenichenko, O.V. Dorovsky // 6. Клінічна фармація. – 2015. – №4. – Р. 25–29.
- [5] Дослідження механізму протизапальної дії густого екстракту з листя ліщини звичайної / Г. Каленіченко, Л. Малоштан, О. Шаталова, О. Доровський // Український біофармацевтичний журнал. – 2015. – №6(41). – С. 30–33.
- [6] Каленіченко А.С. Скрининговое исследование антикоагулянтной, мембраностабилизирующей и противовоспалительной активности густого экстракта из листьев лещины обыкновенной / А.С. Каленіченко, Л.Н. Малоштан // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2016. – №2(48). – С. 43–48.
- [7] «Спосіб моделювання тромбофлебітів периферичних судин» : інформаційний лист від 20.11.2002 р. №25 / укладачі : Л.М. Малоштан, О.В. Должикова, І.О. Батура. – К. : Укрмедпатентпром, 2002. – 2 с.
- [8] Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247. – №6. – С. 1513–1516.

- [9] Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – М. : Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.
- [10] The care of patients with varicose veins and associated chronic venous diseases: Clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery and the American Venous Forum / P. Gloviczki, A.J. Comerota, M.C. Dalsing et al. // JOURNAL OF VASCULAR SURGERY. – 2011. – Vol. 53. – №16S. – P. 2–48.
- [6] Kalenichenko, A. S., & Maloshtan, L. N. (2016). Skрингове дослідження антикоагулянтної, мембраностабілізуючої і протівовоспалител'ної активності густого екстракту із лист'я лещини обыкновенної [Screening study of anticoagulant, membrane stabilizing and anti-inflammatory activity of the thick extract from the leaves of corylus avellana]. *Farmakolohiia ta likarska toksikolohiia*, 2(48), 43–48. [in Ukrainian].
- [7] Maloshtan, L. M., Dolzhikova, O. V., & Batura, I. O. (2002). *Informatsiyni lyst Sposib modeliuвання tromboflebitiv periferichnykh sudyn [Information letter: The modeling method of peripheral vascular thrombophlebitis №25]*. Kyiv: Ukrmedpatentprom. [in Ukrainian].
- [8] Rybolovlev, Yu. R., & Rybolovlev, R. S. (1979). Dozirovanie veshchestv dlya mlekoopitayushchikh po konstantam biologicheskoy aktivnosti [Dosing for mammals substances constants of biological activity]. *Doklady AN SSSR*, 247(6), 1513–1516. [in Russian].
- [9] Merkulov, G. A. (1969). *Kurs patologistologicheskoy tekhniki [Course of pathohistological equipment]*. Moscow: Medicina, Leningradskoe otdelenie. [in Russian].
- [10] Gloviczki, P., Comerota, A. J., Dalsing, M. C., Eklof, B. G., Gillespie, D. L., Gloviczki, M. L., et al. (2011). The care of patients with varicose veins and associated chronic venous diseases: Clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery and the American Venous Forum. *Journal of vascular surgery*, 53(16), 2–48. doi: 10.1016/j.jvs.2011.01.079.

#### Відомості про авторів:

Малоштан Л. М., д-р біол. наук, професор каф. фізіології та анатомії людини, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

Каленіченко Г. С., аспірант каф. фізіології та анатомії людини, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

#### Сведения об авторах:

Малоштан Л. Н., д-р биол. наук, профессор каф. физиологии и анатомии человека, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Каленіченко А. С., аспирант каф. физиологии и анатомии человека, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

#### Information about authors:

Maloshtan L. M., Dr.hab., Professor, Head of the Department of Human Physiology and Anatomy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Kalenichenko A. S., Aspirant, the Department of Human Physiology and Anatomy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

**E-mail:** anna.geiderikh@list.ru.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of Interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшло до редакції / Received: 24.10.2016

Після доопрацювання / Revised: 07.11.2016

Прийнято до друку / Accepted: 27.12.2016